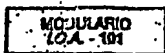


Rec'd PCT/PTO 23 JUL 2004

10/501335



Mod. C.E. - 1-4-7

REC'D 18 MAR 2003

WIPO

PCT

**Ministero delle Attività Produttive**  
**Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività**  
**Ufficio Italiano Brevetti e Marchi**  
**Ufficio G2**

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: **Invenzione Industriale**

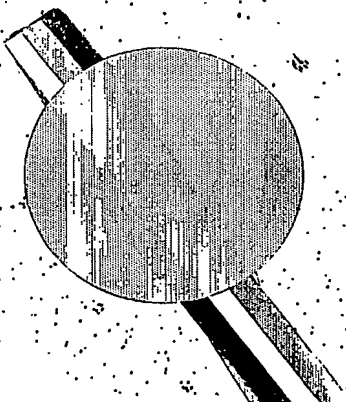
N. **MI2002 A 000148**

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati  
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

**29 OTT. 2002**

Roma, Il .....



IL DIRIGENTE

*Elena Marinelli*  
Elena E. MARINELLI

HF 2557/061

**AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO**  
**UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA**

MODULO A

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

**A. RICHIEDENTE (I)**

1) Denominazione NICOX S.A.  
 Residenza SOPHIA ANTIPOLIS (FR) codice                       
 2) Denominazione                       
 Residenza                      codice                     

**B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.**

cognome nome SAMA DANIELE cod. fiscale 0000010441370151  
 denominazione studio di appartenenza SAMA PATENTS  
 via G.B. MORGAGNI n. 12 città MILANO cap 20129 (prov) MI

**C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario**

via                      n.              città                      cap              (prov)             

**D. TITOLO**

classe proposta (sez/ci/sci)              gruppo/sottogruppo             

"NUOVI CORTICOSTEROIDI"**ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:**SI ☐ NO ☒SE ISTANZA: DATA              /              /             N° PROTOCOLLO                     **E. INVENTORI DESIGNATI**

cognome nome

cognome nome

1) DEL SOLDATO PIERO 3)                       
 2) LONGINI ENNIO 4)                     

**F. PRIORITÀ**

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato  
S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

1)                                                                             /              /                            
 2)                                                                             /              /                          

**G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICROORGANISMI, denominazione****H. ANNOTAZIONI SPECIALI****DOCUMENTAZIONE ALLEGATA**

N. es.

Doc. 1) 2 PROV n. pag. 8, 6 riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) ....  
 Doc. 2)              PROV n. tav.              disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare) .....  
 Doc. 3) 1 RIS lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale .....  
 Doc. 4) 1 RIS designazione inventore .....  
 Doc. 5)              RIS documenti di priorità con traduzione in italiano .....  
 Doc. 6)              RIS autorizzazione o atto di cessione .....  
 Doc. 7)              nominativo completo del richiedente

SCIOGLIMENTO RISERVE  
 Data              /              /              N° Protocollo                       
             /              /                                    
             /              /                                    
             /              /                                    
 confronta singole priorità  
             /              /                                  

8) attestati di versamento, totale lire

NOVECENTOQUINDICIMILA=

obbligatorio

COMPILATO IL 29/01/2002FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I) D. NICOX S.A.CONTINUA SI/NO NOSAMA PATENTS (SAMA DANIELE)DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SIC.S.I.A.A.  
UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI

MILANO

codice 15

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2002A 000148

Reg. A.

L'anno millesimo

DUEMILADUEVENTINOVE, del mese di GENNAIO

Il(I) richiedente(I) sopra indicato(I) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, e presenta da

00 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraportato.**L. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE**

L'UFFICIALE ROGANTE

M. GORTONESI

DATA DI DEPOSITO 12/10/2002 HF 2557/061

DATA DI RILASCIO        /  /  

## "NUOVI CORTICOSTEROIDI"

## L. RIASSUNTO

**NITROOSSI DERIVATI DI COMPOSTI STEROIDEI DI FORMULA GENERALE**

$$B - X_1 - NO_2 \quad (I)$$

**O LORO ESTERI O SALI, IN CUI:**

B È UN RADICALE STEROIDEO,  $X_1$  È UN PONTANTE BIVALENTE COMPRENDENTE UN ANELLO AROMATICO O ETEROCICLICO.

**M. DISEGNO**



Descrizione dell'invenzione industriale a nome:

NICOX S.A., di nazionalità francese, con sede in 2455 Routes des Dolines, Espace Gaia II - Bâtiment I, 06906 Sophia Antipolis, Francia

MI 2002 A 000148

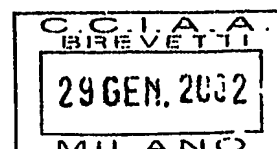
\* \* \* \* \*

La presente invenzione riguarda composti steroidei aventi migliorata attività farmacologica e minori effetti collaterali e migliorata affinità recettoriale sui recettori specifici degli steroidi endogeni.

In particolare l'invenzione riguarda composti steroidei aventi migliorata affinità recettoriale sui recettori specifici degli steroidi endogeni ed aventi una migliorata attività farmacologica e minori effetti collaterali, in particolare:

- quelli a carico del tessuto osseo, come ad esempio osteoporosi, osteonecrosi e miopatie, che in pazienti affetti da asma o da COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease) possono determinare una marcata riduzione delle capacità respiratorie;
- quelli a carico dell'apparato gastrointestinale.

L'invenzione si riferisce a composti a struttura steroidea aventi in particolare non solo migliorata attività antiinfiammatoria a livello periferico, ma anche migliorata attività anti-neurodegenerativa, migliorata attività antiartritica, migliorata attività immunodepressiva, migliorata



attività angiostatica/angiogenetica e antiasmatica; oppure utilizzabili nelle terapie ormonali sostitutive, ad esempio nella terapia post-menopausa.

Più in particolare la presente invenzione si riferisce anche a composti steroidei della classe dei glucocorticoidi che possono essere utilizzati come agenti broncodilatatori nelle patologie respiratorie caratterizzate da episodi bronco-costrittivi.

I composti secondo la presente invenzione risultano terapeuticamente utili nel trattamento di condizioni morbose in cui si applicano i prodotti steroidei in generale, con aumentato beneficio, in termini di migliorata tollerabilità come sopra definito, e migliorata efficacia.

Questo rappresenta un risultato totalmente sorprendente ed inaspettato rispetto ai composti steroidei noti. Infatti prendendo in considerazione i vari impieghi terapeutici sopra indicati di un prodotto specifico precursore, i prodotti della presente invenzione danno una combinazione di risultati, intesi come miglioramento della performance terapeutica, cioè migliorata efficacia farmacoterapeutica e migliorata tollerabilità, rispetto ai prodotti dell'arte nota. Infatti, contrariamente ad ogni attesa, i prodotti della presente invenzione sono caratterizzati dal fatto di mostrare un migliorato profilo terapeutico: elevata attività nelle applicazioni sopra indicate combinata con minori effetti

collaterali come sopra definiti.

SV

Come noto gli steroidi comprendono:

- i corticosteroidi, classificati in glucocorticoidi attivi sulla glucogenesi e sul metabolismo delle proteine, dei lipidi, dei carboidrati e del calcio in genere, mineralcorticoidi attivi sul bilancio idrico e salino;
- gli steroidi sessuali, che includono estrogeni ed androgeni.

E' ben noto che i glucocorticoidi rappresentano un intervento farmacologico di prima scelta nella terapia di numerose patologie. Questa categoria di farmaci, fra cui si possono citare ad esempio l'idrocortisone, il cortisone, il prednisone, il prednisolone, il fludrocortisone, il desossicorticosterone, il metilprednisolone, il triamcinolone, il parametasone, il betametasone, il dexametasone, il triamcinolone acetone, il fluocinolone acetone, il beclometasone, l'acetossipregnone, ecc., esercita effetti farmaco-tossicologici marcati su vari organi. Per questo motivo sia l'uso clinico prolungato che l'interruzione del trattamento farmacologico provocano una serie di effetti collaterali, alcuni dei quali assai gravi. Si veda ad esempio Goodman & Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics" 9. ed., pagg. 1459-1465, 1996.

Fra gli effetti collaterali si possono menzionare:

- quelli a carico del tessuto osseo, come ad esempio osteoporosi, osteonecrosi e miopatie, che in pazienti

quelli a carico del sistema cardiovascolare che generano  
risposte ipertensive e/o disturbi della frequenza  
cardiaca;

- aumentata predisposizione alla infezioni;
- quelli a carico dell'apparato gastrointestinale;
- aumento dei livelli di glucosio nel sangue, che in pazienti diabetici può portare ad un aggravamento della malattia, o in pazienti predisposti provocare l'insorgenza di crisi iperglicemiche.

Si veda ad esempio Martindale "The Extrapharmacopoeia",  
30th ed., pagg. 712-723, 1993.

Secondo l'arte nota non sembra possibile separare le azioni terapeutiche degli steroidi dai loro effetti collaterali, si veda Goodman et al, citato sopra, pag. 1474.

Nell'arte nota sono descritti nitrossi derivati di steroidi, i quali sono utilizzabili anche come agenti cardiovascolari per la terapia dell'insufficienza coronarica o dell'angina pectoris.

Ad esempio, il brevetto tedesco DE 2.222.491 descrive la preparazione di derivati del pregnano aventi in posizione 21 il gruppo  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{NO}_2$ . Nel brevetto si afferma che i derivati hanno attività cardiotropica. Questa attività rappresenta uno

svantaggio per questi composti, in quanto essi alterano la frequenza cardiaca. Inoltre nel brevetto non si fa alcuna menzione della affinità recettoriale sui recettori specifici degli steroidi endogeni. Inoltre nel brevetto non si fa alcuna menzione della affinità recettoriale sui recettori specifici degli steroidi endogeni.

USP 3.494.941 descrive derivati di steroidi da 3-idrossiestrano o da estr-4 en-3 one, impiegati come vasodilatatori nel trattamento di affezioni cardiache quali insufficienza coronarica e angina pectoris. Nella struttura di detti composti un gruppo  $\text{ONO}_2$  si trova all'estremità libera della catena alchilenica che è legata tramite un ponte etero allo steroide in posizione 17. Secondo questo brevetto è possibile avere gruppi nitrato anche nelle posizioni 3 e 16 della struttura steroidea. Gli stessi svantaggi indicati sopra per quanto riguarda gli effetti sulla frequenza cardiaca si possono ripetere per i composti di questo brevetto. Inoltre nel brevetto non si fa alcuna menzione della affinità recettoriale sui recettori specifici degli steroidi endogeni.

USP 3.183.252 descrive derivati di 16-nitratoalchilpregnani in cui il gruppo alchile è legato alla struttura del pregnano con un legame carbonio-carbonio. I composti secondo questo brevetto possono essere utilizzati come vasodilatatori. Si possono ripetere gli stessi svantaggi riportati per l'arte nota indicata sopra.



WO 98/15 a nome della Richiedente descrive esteri nitrati di composti steroidei, in cui tra la struttura steroidea e il gruppo nitrossi è inserito un pontante bivalente. Detti composti mostrano una buona efficacia e/o buona tollerabilità rispetto ai corrispondenti precursori. Tuttavia negli esempi e nel testo della descrizione non vengono menzionati dati sulla attività recettoriale. Non viene quindi riportata alcuna indicazione che suggerisca composti steroidei aventi migliorata attività recettoriale e migliorata attività farmacologica combinata con minori effetti collaterali.

La domanda di brevetto WO 00/61604 a nome della Richiedente descrive nitroossi derivati di composti steroidei con vari pontanti recanti ad una estremità un gruppo nitrossi, e covalentemente legati con l'altra a un composto steroideo. In detta domanda le applicazioni riguardano composti utilizzabili nel trattamento di pazienti in stress ossidativo. Questi composti contengono nella molecola anche un pontante bivalente che deve essere in grado di inibire la produzione di radicali liberi, che viene scelto in base ai tests ivi riportati. Non viene data quindi nessuna indicazione che suggerisca composti steroidei aventi migliorata attività recettoriale e migliorata attività farmacologica combinata con minori effetti collaterali.

Era sentita l'esigenza di avere disponibili composti

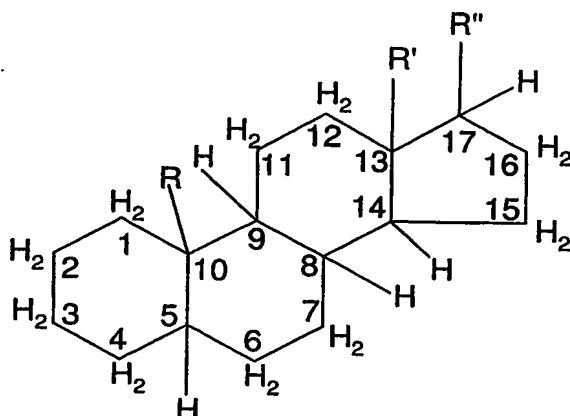
steroidi avuti migliorata affinità recettoriale sui recettori specifici degli steroidi endogeni e migliorata attività farmacologica combinata con minori effetti collaterali. La Richiedente ha sorprendentemente e inaspettatamente trovato una classe specifica di composti steroidi che nelle patologie sopra indicate mostrano inaspettatamente e sorprendentemente non solo migliorata efficacia ma anche migliorata tollerabilità e minori effetti collaterali rispetto agli steroidi dell'arte nota.

Costituiscono un oggetto della presente invenzione nitroossi derivati di composti steroidi di formula generale



o loro esteri o sali, in cui:

B è un radicale steroideo avente la seguente struttura:

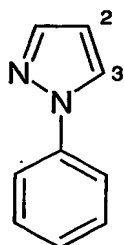


(IA)

in cui al posto dell'idrogeno del gruppo CH, o dei due idrogeni del gruppo CH<sub>2</sub> indicati nella formula generale, si possono avere i seguenti sostituenti:

in posizione 1-2: un doppio legame;

in posizione 2-3 il seguente sostituyente:



(IA-1);

in posizione 2: Cl, Br;

in posizione 3: oxo,  $-O-CH_2-CH_2-Cl$ , OH,  $OCH_3$ ;

in posizione 4-5: un doppio legame;

in posizione 5-6: un doppio legame;

in posizione 6: Cl, F, Br,  $CH_3$ ,  $-CHO$ ;

l'anello definito dagli atomi di carbonio numerati 1, 2, 3, 4, 5, e 10 è aromatico quando B è il residuo di un estrogeno;

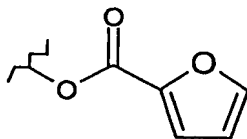
in posizione 7: Cl, OH;

in posizione 9: Cl, F, Br;

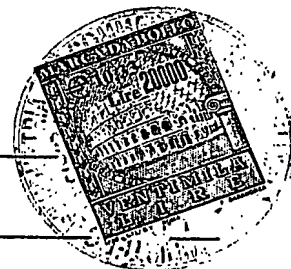
in posizione 11: OH, oxo, Cl;

in posizione 16:  $CH_3$ , OH,  $=CH_2$ ;

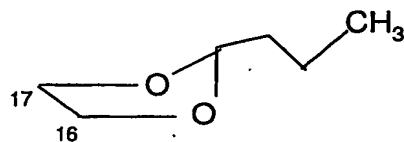
in posizione 17: OH,  $CH_3$ ,  $OCO(O)_{ua}(CH_2)_{va}CH_3$  in cui ua è un intero uguale a 0 o 1, va è un intero da 0 a 4, etinile ( $C\equiv CH$ ); oppure



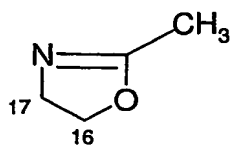
(IA-2)



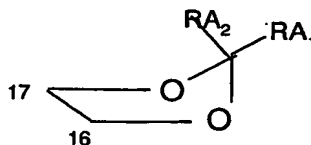
in posizione 16 e 17 i seguenti gruppi:



(IA-3)



(IA-4)



(IA-5)

in cui  $RA_1$  è H,  $CH_3$ ;  $RA_2$  è una catena alchilica lineare o ramificata  $C_1-C_{10}$ , preferibilmente  $C_1-C_3$ , ancor più preferibilmente  $CH_3$ , oppure un anello cicloalifatico saturo a 5-6 atomi di carbonio o aromatico opzionalmente sostituito in posizione para con  $N(R_{1c})_2$  dove  $R_{1c}$  è un alchile  $C_1-C_{10}$ , preferibilmente  $C_1-C_4$  lineare o ramificato;

R ed R', uguali o diversi fra di loro, possono essere idrogeno o alchili  $C_1-C_4$  lineari o ramificati, preferibilmente  $R = R' = CH_3$  oppure  $R = R' = H$ ;

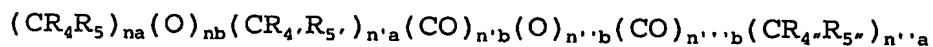
preferibilmente B è un residuo di un corticosteroide;

R" in posizione 17 è un radicale bivalente che ha uno dei seguenti significati:

IB)  $-(CO-L)_t-(X_0)_{t1}-$ , in cui  $t = 1$  e  $t1$  è 0 oppure 1, preferibilmente 0;

IC)  $-L-(X_0)_{t1}-$ , in cui  $t1$  è 0 oppure 1, preferibilmente 1;

il pontante bivalente L ha il seguente significato:



in cui  $na$ ,  $n'a$ , ed  $n''a$ , uguali o diversi tra loro, sono interi da 0 a 6, preferibilmente 1-3;  $nb$ ,  $n'b$ ,  $n''b$  e  $n''''b$ , uguali o diversi tra loro, sono interi uguali a 0 o 1;  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ , uguali o diversi fra loro, sono scelti fra H, al-

(HP 2557/061)

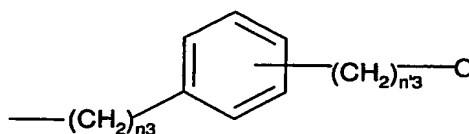
chile  $C_1-C_5$ , preferibilmente  $C_1-C_3$ , lineare o ramificato;

$X_0 = -O-, -NH-, -NR_{1c} -$  in cui  $R_{1c}$  è come sopra definito;

il legame tra lo steroide e il pontante  $X_1$  è di tipo estereo o ammidico;

$X_1$  è un ponte di collegamento bivalente scelto fra i seguenti:

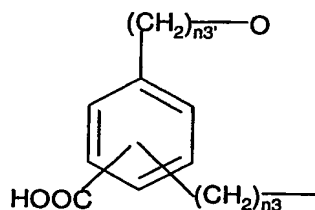
-  $Y_{AR1}$ :



(V)

in cui  $n_3$  è un intero da 0 a 5 ed  $n_3'$  è un intero da 1 a 3;

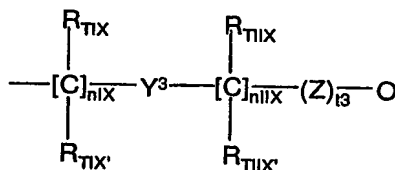
-  $Y_{AR2}$ :



(VI)

in cui  $n_3$  ed  $n_3'$  hanno il significato sopra indicato.

-  $Y_p$ :



(III)

in cui:

$n_{IX}$  è un intero da 0 a 10, preferibilmente 1-3;

$n_{IIX}$  è un intero da 1 a 10, preferibilmente 1-5;

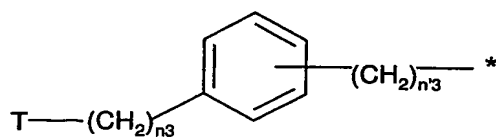
$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$ , uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato  $C_1-C_4$ ; preferibilmente

$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$  sono H;

$Y^3$  è un anello eterociclico saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi, contenente da uno a tre eteroatomi, preferibilmente da uno a due, detti eteroatomi essendo uguali o diversi e scelti tra azoto, ossigeno, zolfo; preferibilmente azoto;

$t_3$  è zero oppure 1;

Z ha il seguente significato:



(VI)

in cui:

\* indica la posizione del gruppo  $ONO_2$ ;

T ha i seguenti significati:

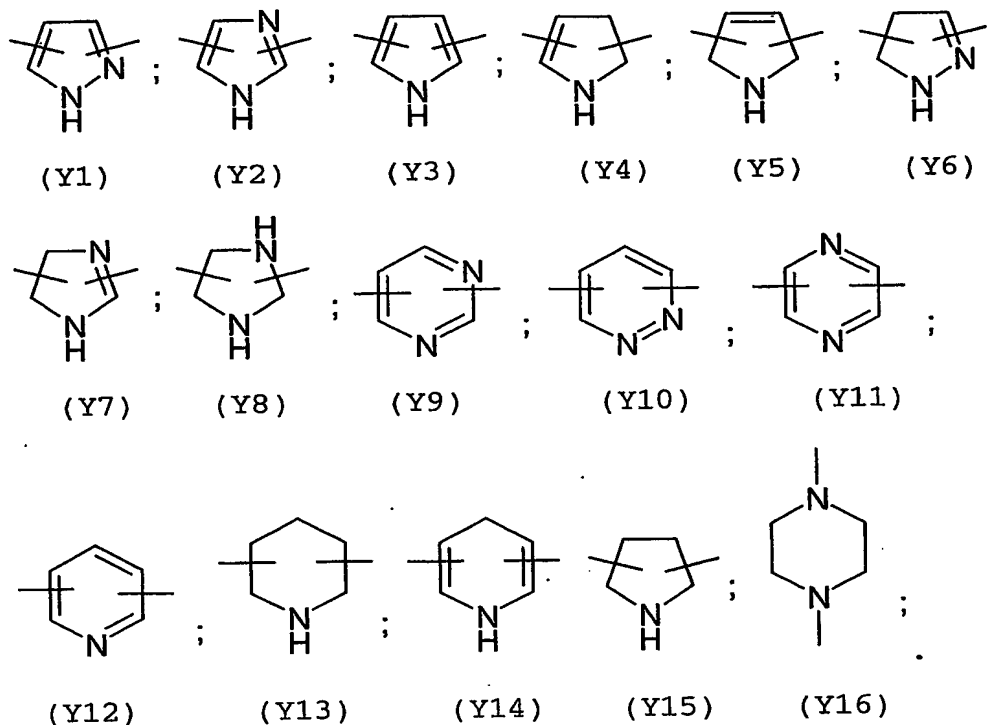
- $-COX_3-$ ,  $-X_3CO-$ , in cui  $X_3 = S$  oppure  $X_o$  come sopra definito;
- $-X_3-$  come sopra definito;

$n_3$  ed  $n'_3$  sono come sopra definiti.

Il pontante  $X_1$  si lega al radicale B con la valenza indicata che non porta l'ossigeno.

Preferibilmente  $Y^3$  è scelto tra i seguenti radicali

bivalenti:



Preferiti di  $Y^3$  sono i seguenti: (Y12), avente le due valenze libere nelle posizioni orto rispetto all'atomo di azoto; (Y16) con le due valenze legate ai due eteroatomi, Y1 (pirazolo) 3,5-disostituito; particolarmente preferito è Y16.

I composti preferiti dell'invenzione sono quelli in cui il precursore di B ha i significati sotto elencati.

Ad esempio si possono menzionare come precursori degli steroidi della presente invenzione quelli descritti nel Merck Index, 12a Ed. 1996, qui incorporato integralmente per riferimento nel quale sono menzionati anche i relativi metodi di sintesi di questi composti, e nei brevetti qui di seguito citati. I precursori (secondo la nomenclatura Merck) sono i seguenti: corticosteroidi scelti tra Budesonide, Hydrocorti-

(HF 2557/061)

sone, Alclomethasone, Algestone, Beclomethasone, Betamethasone, Chloroprednisone, Ciclesonide (US 5.482.934), Clobetasol, Clobetasone, Clocortolone, Cloprednol, Cortisone, Corticosterone, Deflazacort, Desonide, Desoximethasone, Dexamethasone, Dexamethasone 17-furoate, Diflorasone Difluocortolone, Difluprednate, Fluazacort, Flucloronide, Flumethasone, Flunisolide, Fluocinolone Acetonide, Fluocinonide, Fluocortyn Butyl, Fluocortolone, Fluorometholone, Fluperolone Acetate, Fluprednidene Acetate, Fluprednisolone, Flurandrenolide, Formocortal, Halcinonide, Halobetasol Propionate, Halometasone, Halopredone Acetate, Hydrocortamate, Itrocinonide (EP 197.018), Loteprednol Etabonate, Meclonisonide (US 4.472.393), Medrysone, Meprednisone, Methylprednisolone, Mometasone Furoate, Paramethasone, Prednicarbate, Prednisolone, Prednisolone 25-Diethylaminoacetate, Prednisolone Sodium Phosphate, Prednisone, Prednival, Prednylidene, Rofleponide Rimexolone, Triamcinolone, 21-Acetoxyprogesterone, Cortivazol, Amcinonide, Fluticasone Propionate, Mazipredone, Taucorten, Tixocortol, Triamcinolone Hexacetonide; acidi biliari scelti tra acido Ursodesossicolico, acido Chenodesossicolico; estrogeni scelti tra Mitatrienediolo, Moxestrol, Etinilestradiolo, Estradiolo, Mestranolo, methyl (20R)-6-alfa, 9alfa-difluoro-11beta-idrossi-16alfa, 17alfapropyl methylene dioxyandrosta-1,4-dien-3-one-17beta-carbossilato (EP 143.764).

Preferibilmente quando B è il residuo di un corti-



costeroide,  $R'' = IB$  con  $t = 1$  e  $t_1 = 0$ ; preferibilmente nella formula del pontante  $L$   $n_a = n_b = n'b = 1$ ;  $n'a = n''b = n'''b = n''a = 0$ ;  $R_4 = R_5 = H$ ; oppure  $n'b = n''b = 1$  e tutti gli altri  $n_a, n_b, n'a, n''b, n''a$  sono uguali a zero.

Preferibilmente quando  $B$  è il residuo di un acido biliare,  $R'' = IC$  con  $t_1 = 1$ ; preferibilmente nella formula del pontante  $L$   $n_a = n'b = 1$ ,  $n'a = 2$ ,  $n''b = n'''b = n''a = n_b = 0$ ,  $R_4 = CH_3$ ,  $R_5 = R_4 = R_5 = H$ .

Preferibilmente quando  $B$  è il residuo di un estrogeno allora

-  $R'' = IC$  in cui  $t_1 = 0$  e nella formula del pontante  $L$   $n_b = n'b = 1$ ;  $n_a = n'a = n''b = n'''b = n''a = 0$ , l'altro sostituyente in posizione 17 è preferibilmente  $H$  o etinile, e in posizione 3 uno dei sostituenti opzionalmente può essere il gruppo  $-R''-X_1-NO_2$  ( $R''$  come definito sopra);

oppure

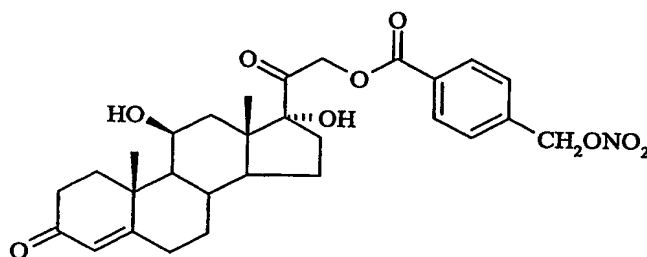
- in posizione 3 è presente il gruppo  $-R''-X_1-NO_2$ , essendo  $R''$  come sopra definito quando  $B$  è il residuo di un estrogeno, in questo caso i sostituenti degli atomi di carbonio in posizione 17 nella formula (IA) di  $B$  sono i seguenti:
- $R'' = -O-$ , in cui la valenza libera dell'ossigeno è saturata con  $H$ ;
- $H$  nella formula (IA) è sostituito con un gruppo diverso

da OH.

I precursori dei radicali bivalenti  $X_1$  come sopra definiti, in cui la valenza libera dell'ossigeno è saturata con H e la valenza libera dell'atomo di carbonio terminale è saturata o con un gruppo carbossilico o ossidrilico o amminico, sono prodotti commerciali o possono essere sintetizzati secondo i metodi noti nell'arte.

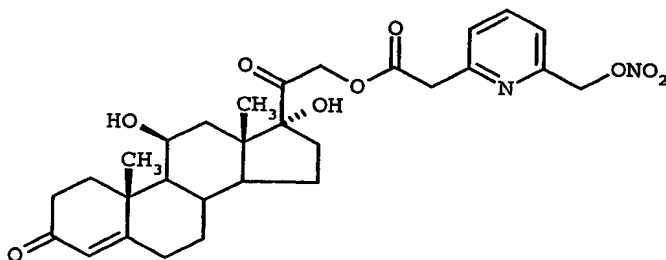
I composti preferiti secondo la presente invenzione sono i seguenti:

Idrocortisone 21-(4'-nitrossimetil) benzoato



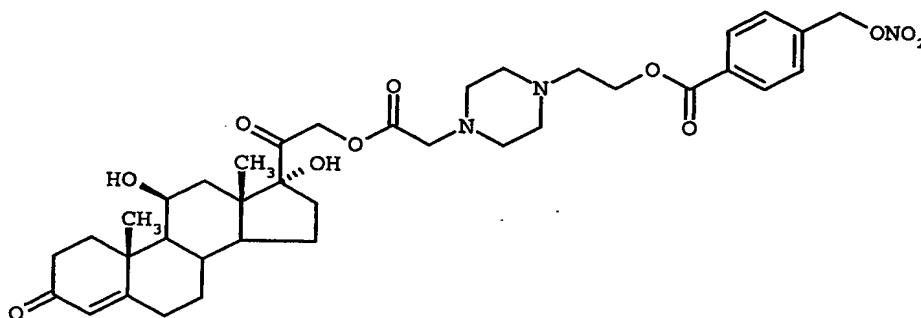
;

Idrocortisone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]

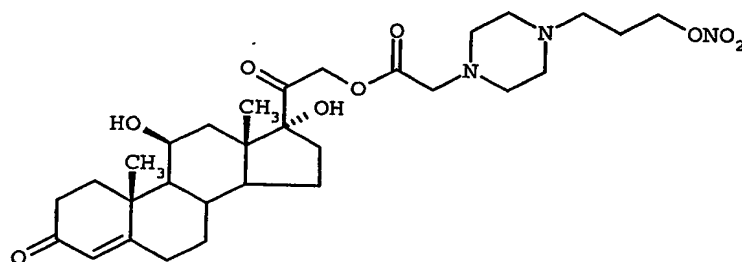


;

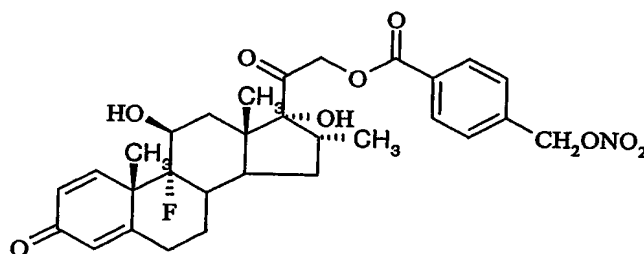
Idrocortisone-21[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi]etil]  
1-piperazinil]acetato]



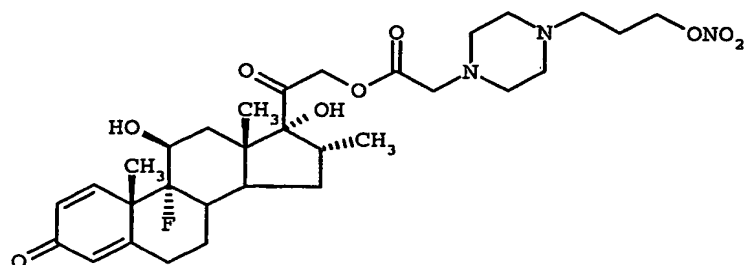
Idrocortisone-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil]  
acetato]



Desametasone 21-(4'-nitroossimetil)benzoato

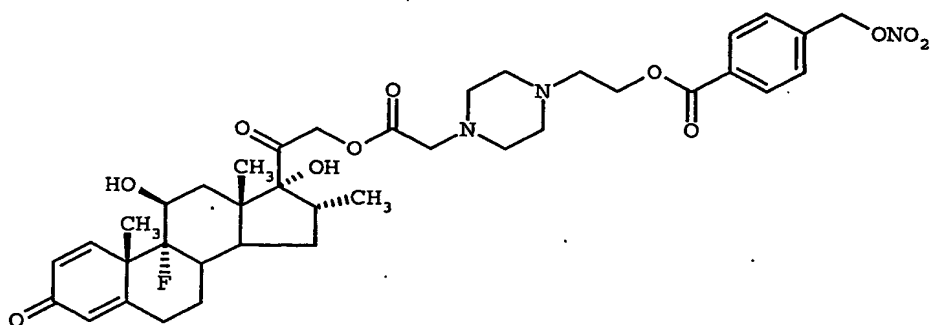


Dexametasone-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil]  
acetato]



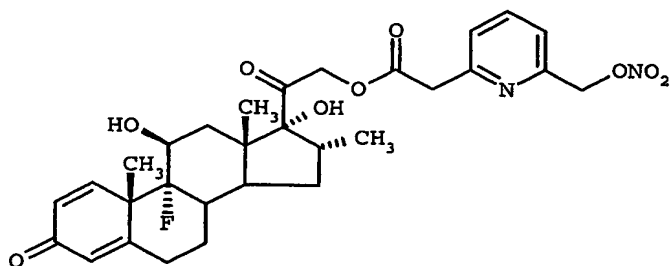
;

Dexametasone-21[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi]etil]-  
1-piperazinil]acetato]



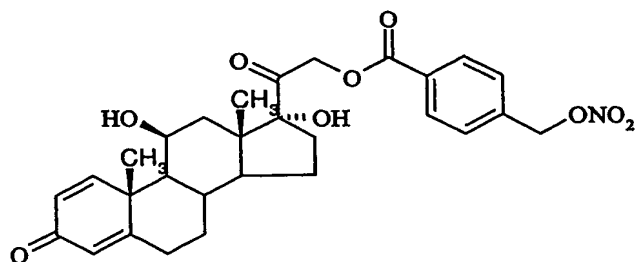
;

Dexametasone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]

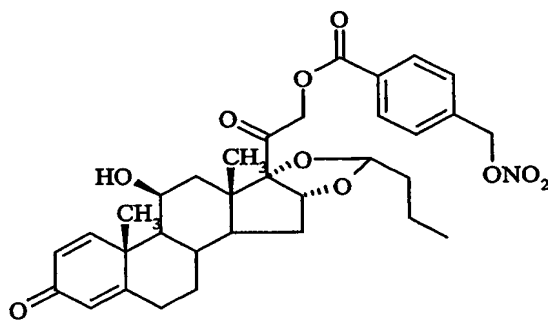


;

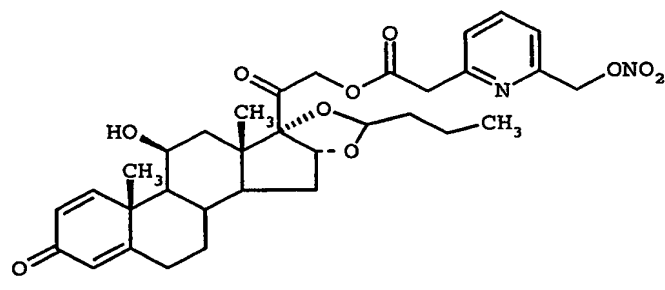
Prednisolone 21-(4'-nitrossimetil)benzoato



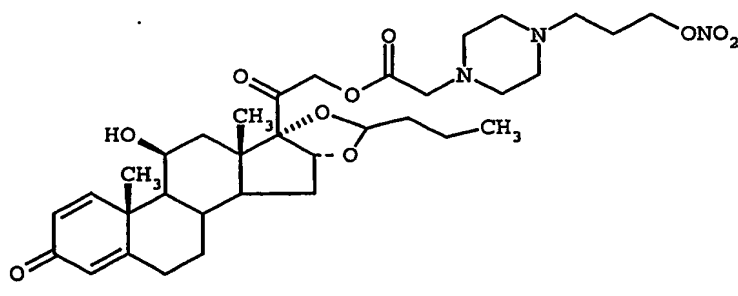
Budesonide 21-(4'-nitrossimetil)benzoato:



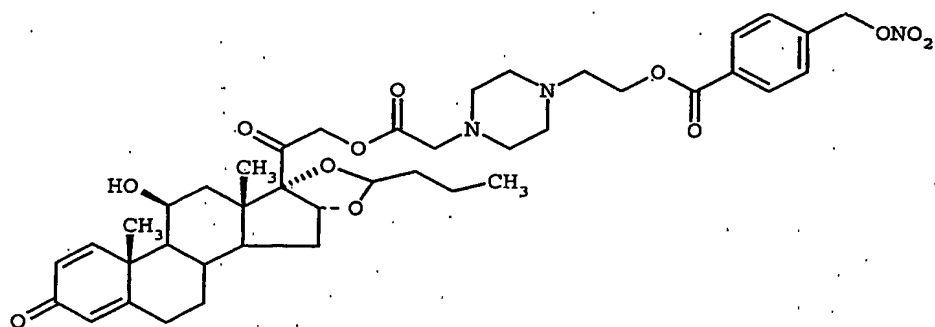
Budesonide-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]



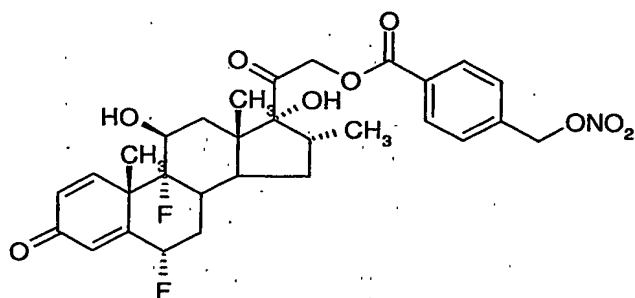
Budesonide-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil]  
acetato]



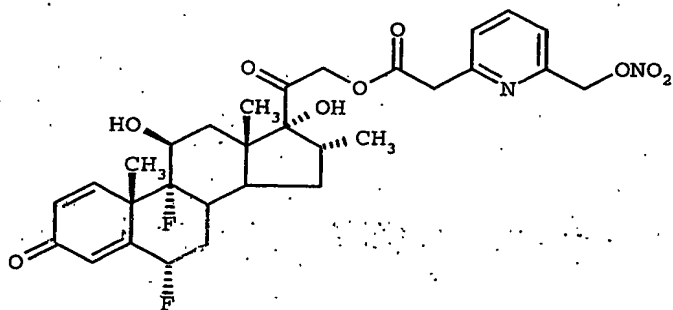
Budesonide-21[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi]etil]-1-piperazinil]acetato]



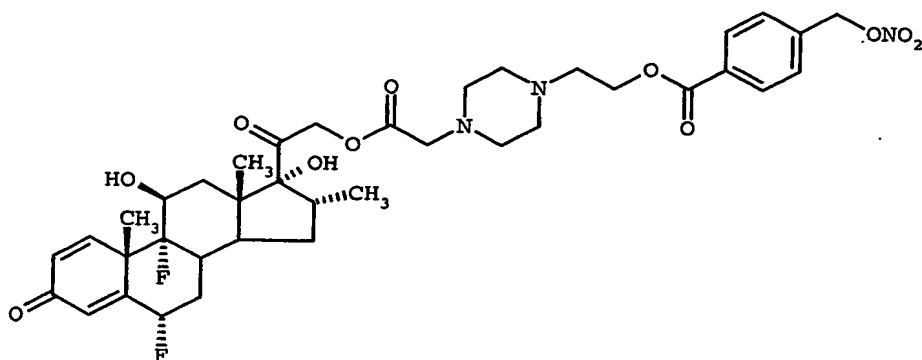
Flumetasone 21-(4'-nitrossimetil)benzoato:



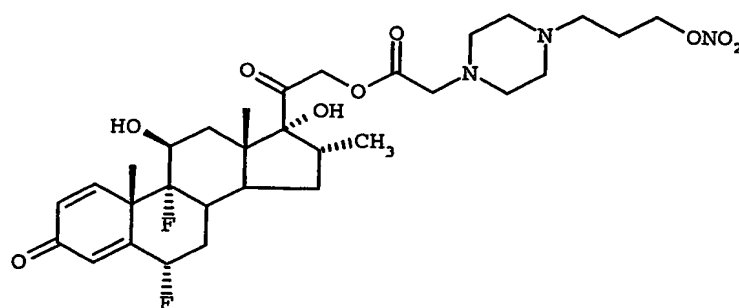
Flumetasone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]



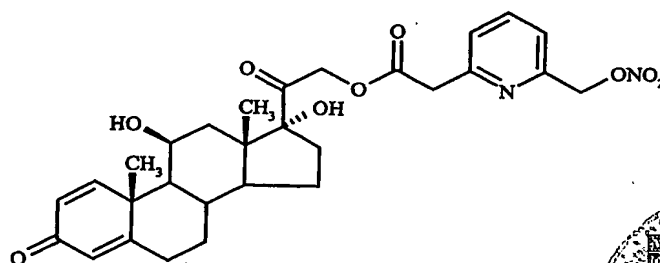
Flumetasone-21-[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi]etil]-1-piperazinil]acetato]



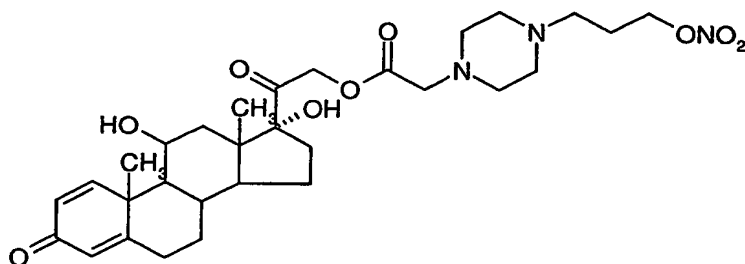
Flumetasone-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil]acetato]



Prednisolone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]

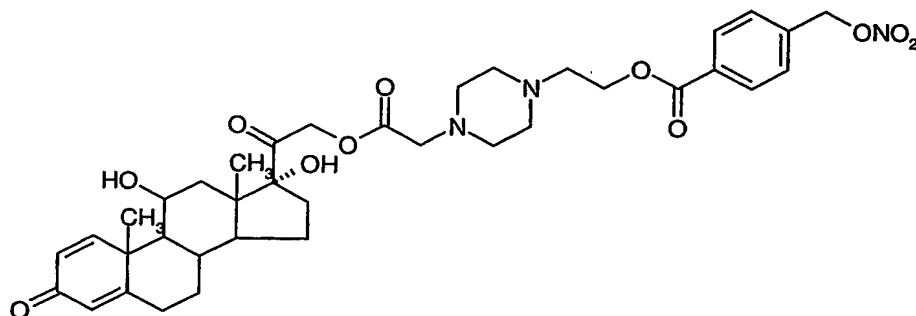


Prednisolone-21-[2-[4-(3-nitroossipropil) piperazin-1-il] acetato] e il corrispondente sale biscloridrato:



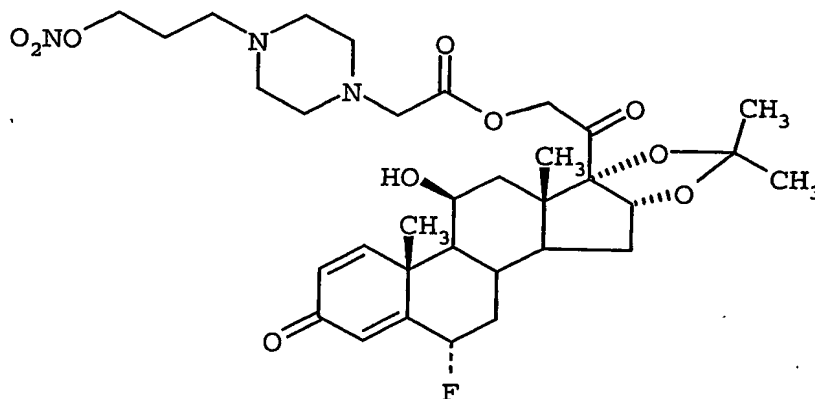
;

Prednisolone-21-[2-[4-[2-[(4'-nitroossi metil) benzoilos-sil]etil]piperazin-1-il]acetato] e il corrispondente sale biscloridrato:



;

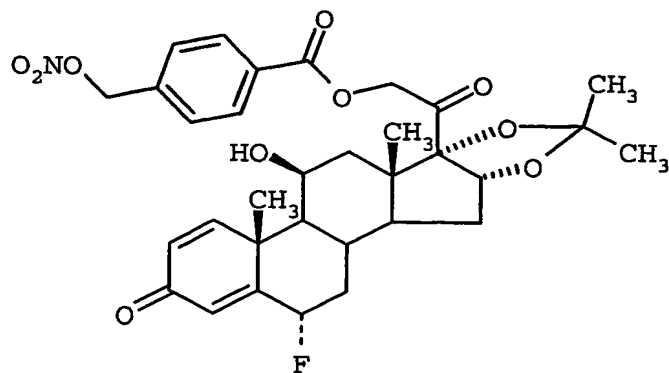
Flunisolide-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil] acetato]



;

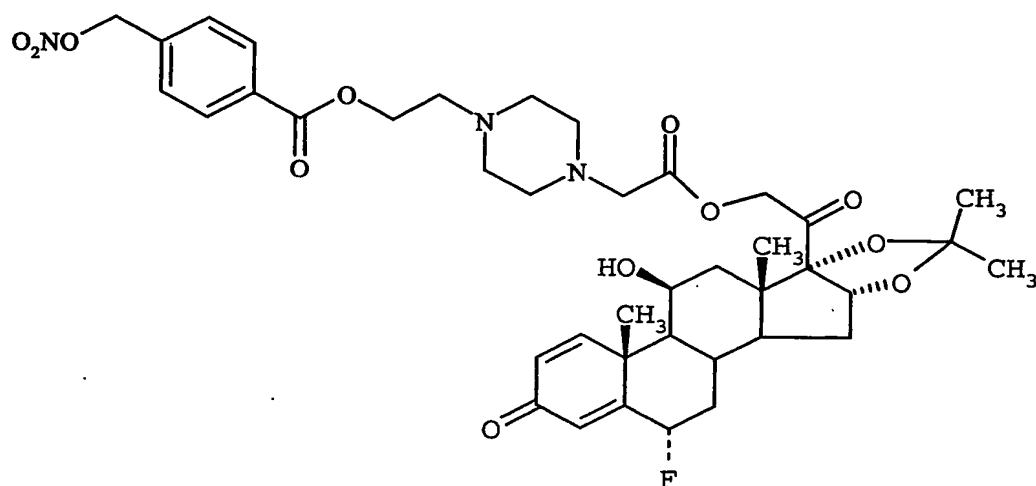


Flunisolide-21-[[4'-nitroossimetil)]benzoato



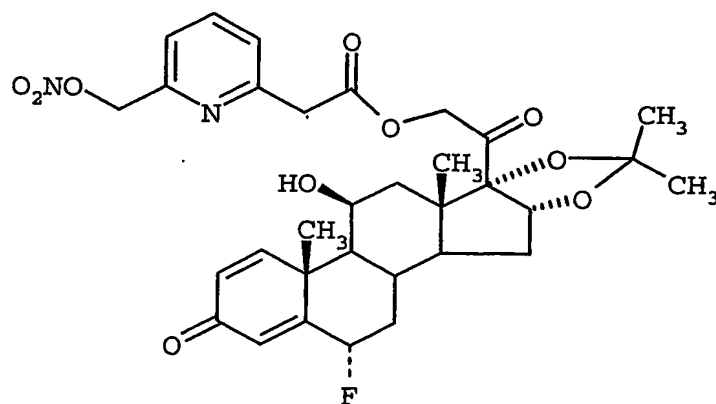
;

Flunisolide-21-[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi]etil]-1-piperazinil]acetato]



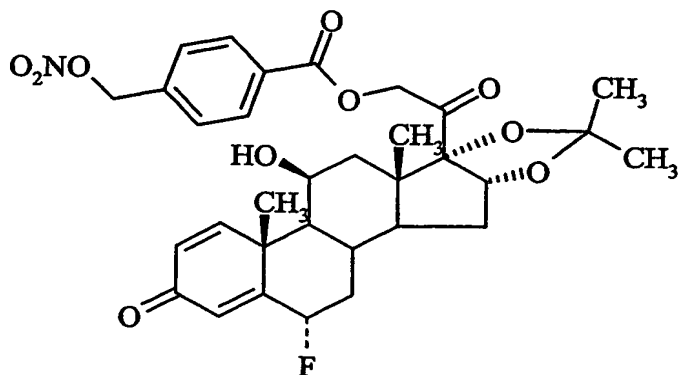
;

Flunisolide-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]



;

Flunisolide 21-[(4'-nitrooxymethyl)benzoate)]



In generale la connessione tra B e  $X_1$  è, come detto, di tipo estereo o ammidico ( $NH$  o  $NR_{1c}$ , come definito in  $X_0$ ). Per la formazione di questi gruppi funzionali sono impiegabili i metodi di sintesi descritti nell'arte.

I composti secondo la presente invenzione, quando è presente almeno un gruppo funzionale salificabile con acidi, ad esempio un gruppo amminico, possono essere trasformati nei corrispondenti sali. Ad esempio un modo per formare i sali è il seguente: qualora sia presente nella molecola un atomo di azoto basico, si fa reagire in solvente organico come ad esempio acetonitrile, tetraidrofurano con una quantità equimolecolare del corrispondente acido, organico o inorganico.

Esempi di acidi organici sono: acido ossalico, tartarico, maleico, succinico, citrico, acido trifluoroacetico.

Esempi di acidi inorganici sono: acido nitrico, cloridrico, solforico, fosforico.

Quando i composti precursori utilizzabili nella presente invenzione hanno uno o più centri chirali, essi possono essere

in forma racemica o come miscele di diastereoisomeri, come singoli enantiomeri o singoli diastereoisomeri; se presentano asimmetria geometrica si possono utilizzare i composti nella forma cis o trans.

Qualora il gruppo funzionale della struttura dello steroide che reagisce con  $X_1$  (ad es.  $-COOH$ ,  $-OH$ ) sia impegnato in un legame di tipo covalente, ad es. estere, ammido, etere, detta funzione può venire ripristinata con i metodi ben noti nell'arte.

In generale quando nei composti in reazione sono presenti più gruppi funzionali, questi gruppi possono essere protetti prima delle reazioni secondo i metodi noti nell'arte; ad esempio come descritto in "Protective groups in organic synthesis", Th. W. Greene, Harvard University Press, 1980.

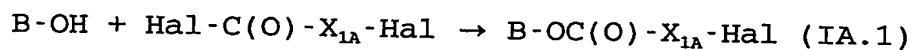
Gli acilalogenuri utilizzati nelle sintesi dei composti dell'invenzione possono essere preparati secondo i metodi noti nell'arte, ad esempio facendo reagire i corrispondenti acidi carbossilici con tionil cloruro o ossalil cloruro, con alogenuri di  $P^{III}$  o  $P^V$  in solventi inerti nelle condizioni di reazione.

1. Se la funzione reattiva dello steroide è il gruppo ossidrilico ( $B-OH$ ) e il legame tra lo steroide e il pontante  $X_1$  è di tipo estereo, i metodi di sintesi più utilizzati sono i seguenti:

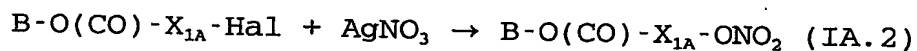
1a. Reazione tra la molecola dello steroide con un composto di



formula  $\text{Hal-C(O)-X}_{1A}\text{-Hal}$  in cui  $\text{Hal} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ , e  $\text{X}_{1A}$  è un radicale che si ottiene da  $\text{Y}_{AR1}$  (formule V e VI) o  $\text{Y}_p$  (formula III) con  $t_3 = 0$ , omettendo l'atomo di ossigeno  $-\text{O}-$ , in presenza di una base organica come trietilamina o piridina, ecc., impiegando un solvente inerte nelle condizioni di reazione come DMF, toluene, tetraidrofurano, ecc. e una temperatura compresa tra  $0^\circ\text{C}$  e  $25^\circ\text{C}$  secondo lo schema (IA) seguente:



Il nitroossi derivato corrispondente si ottiene facendo reagire il composto (IA.1) ottenuto dalla reazione precedente con  $\text{AgNO}_3$  in un solvente organico come acetonitrile, tetraidrofurano ad una temperatura compresa tra  $25^\circ\text{C}$  e  $80^\circ\text{C}$ , secondo lo schema (IA.2) seguente:



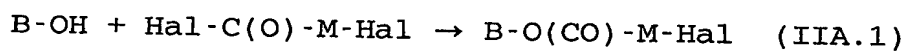
1b. In alternativa alla sintesi descritta in 1a, il composto  $\text{HO-C(O)-X}_{1A}\text{-Hal}$  in cui  $\text{Hal}$  e  $\text{X}_{1A}$  hanno i significati sopra definiti, può essere trattato con un agente attivante il carbossile, scelto tra  $\text{N,N}$ -dicarbonildiimidazolo (CDI),  $\text{N}$ -idrossi benzotriazolo o dicicloesilcarbodiimide (DCC), in un solvente organico come ad esempio DMF, tetraidrofurano, cloroformio, ecc., a una temperatura compresa tra  $-5$  e  $50^\circ\text{C}$ . Il composto ottenuto viene fatto reagire in situ con lo steroide (B-OH) a dare il composto di formula (IA.1).

Il nitroossi derivato corrispondente si ottiene come

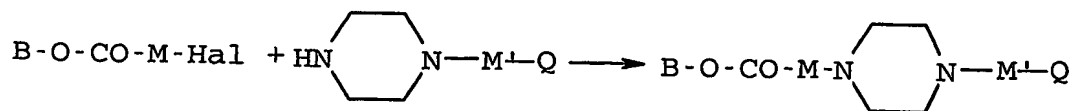
sopra è stato descritto.

2. Se la funzione reattiva dello steroide è il gruppo ossidrile (B-OH), quando  $X_1 = Y_p$  e in particolare  $Y_p = Y_{16}$  e inoltre il legame tra lo steroide, il pontante  $X_1$  è di tipo estereo,  $t_3 = 0$  nella formula (III), il metodo di sintesi utilizzabile è ad esempio il seguente:

2a. Lo steroide B-OH viene fatto reagire con un composto di formula  $\text{Hal-C(O)-M-Hal}$  in cui  $\text{Hal} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$  e M è un alchilene  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$  lineare o sostituito, in presenza di una base organica come trietilamina o piridina, ecc., impiegando un solvente inerte nelle condizioni di reazione come DMF, toluene, tetraidrofurano, ecc., a una temperatura compresa tra 0 e 25°C secondo lo schema (IIA) seguente:



Il composto di formula (IIA.1) viene quindi fatto reagire con il biscloridrato di una N-( $\omega$ -alogenoalchil)piperazina o con N-( $\omega$ -idrossialchil)piperazina, in cui l'alchilene uguale o diverso da M è M', in presenza di una base organica come ad esempio trietilamina, ecc., impiegando un solvente inerte nelle condizioni di reazione come DMF, toluene, tetraidrofurano, ecc., e a una temperatura compresa tra -5 e 0°C, secondo lo schema (IIB) a dare il composto (IIB.1):



IIB.1

in cui M e M' sono come sopra definiti; Q = OH, Cl, Br, I.

(HF 2557/061)

Quando  $Q = Cl, Br, I$  il composto (IIB.1) viene fatto reagire con  $AgNO_3$  come sopra indicato per ottenere il nitrossiderivato corrispondente.

Quando nella formula (III)  $t_3 = 1$ , la funzione che si trova all'estremità libera del radicale bivalente  $M'$  viene fatta reagire secondo lo schema di sintesi ad esempio riportato in Ia, in cui  $X_{1A}$  è il radicale di formula (VI) ma omettendo il gruppo funzionale T. Si ottiene un composto avente un gruppo Hal che viene fatto reagire con  $AgNO_3$  come sopra descritto.

3. Se la funzione reattiva dello steroide è il gruppo carbossile ( $R-COOH$ ) e il legame tra lo steroide e il pontante  $X_1$  è di tipo estereo, il metodo di sintesi più utilizzato è il seguente:

3a. Lo steroide ( $R-COOH$ ) viene trattato con un agente attivante il carbossile scelto tra N,N-dicarbonildiimidazolo (CDI), N-idrossibenzotriazolo o diclicloesilcarbodiimide (DCC) in un solvente organico come ad esempio DMF, tetraidrofurano, cloroformio, ecc., a una temperatura compresa tra  $-5^\circ$  e  $50^\circ C$ . Il composto ottenuto viene fatto reagire in situ con il precursore di  $X_1$  di formula  $HO-X_{1A}-Hal$  in cui  $X_{1A}$  è un radicale che si ottiene da  $Y_{AR1}$  o  $Y_p$  omettendo l'atomo di ossigeno  $-O-$ , e Hal è come sopra definito. Il composto che si ottiene, avente formula generale  $B-C(O)-O-X_{1A}-Hal$ , viene fatto reagire con  $AgNO_3$  come descritto sopra a dare il nitroossiderivato

corrispondente

BV

4. Se la funzione reattiva dello steroide è il gruppo carbossile ( $R-COOH$ ) e il legame tra lo steroide e il pontante  $X_1$  è di tipo ammidico, il metodo di sintesi più utilizzato è il seguente:

4a. Lo steroide ( $R-COOH$ ) viene trattato con un agente attivante il carbossile scelto tra dicicloesilcarbodiimide (DCC) in un solvente organico come ad esempio DMF, tetraidrofurano, cloroformio, ecc., a una temperatura compresa tra  $-5^\circ$  e  $50^\circ C$  e il composto ottenuto viene fatto reagire in situ con il precursore di  $X_1$  di formula  $H_2N-X_{1A}-Hal$  in cui  $X_{1A}$  e  $Hal$  sono come sopra definiti. Il composto che si ottiene avente formula generale  $B-C(O)-NH-X_{1A}-Hal$  viene fatto reagire con  $AgNO_3$  come descritto sopra a dare il nitroossiderivato corrispondente.

La Richiedente ha inaspettatamente trovato che i composti dell'invenzione in cui il pontante  $X_1$  è scelto tra i radicali bivalenti sopra indicati, permettono di ottenere, si vedano gli esempi delle prove di affinità recettoriale (receptor binding assay), risultati inaspettatamente e sorprendentemente migliorati rispetto ai nitrossiderivati in cui il pontante  $X_1$  è un alchilene e/o rispetto ai corrispondenti steroidi precursori.

Detti risultati sono totalmente inaspettati in quanto nell'arte nota non vi è alcuna indicazione che con i pontanti

(HF 2557/061)



descritti nella presente invenzione fosse possibile migliorare l'affinità recettoriale.

I composti della presente invenzione non influiscono sui parametri cardiocircolatori, e quindi i composti della presente invenzione non danno effetti indesiderati sulla pressione sistemica e sulla frequenza cardiaca. Inoltre i composti dell'invenzione mostrano migliorata attività farmacologica combinata con minori effetti collaterali, in particolare:

- a carico del tessuto osseo, come ad esempio osteoporosi;
- a carico dell'apparato gastrointestinale.

I composti dell'invenzione hanno non solo migliorata attività antiinfiammatoria a livello periferico, ma anche migliorata attività anti-neurodegenerativa, essendo i composti attivi sulle malattie neurodegenerative su base infiammatoria e traumatica del sistema nervoso, quali ad esempio trauma e lesioni spinali e trauma cerebrale, infiammazione delle vie nervose quali sclerosi multipla. I composti dell'invenzione mostrano inoltre migliorata attività antiartritica, migliorata attività immunodepressiva, migliorata attività angiostatica/angiogenetica e antiasmatica.

I composti dell'invenzione sono utilizzabili nelle terapie ormonali sostitutive, ad esempio nella terapia post-menopausa. I composti secondo la presente invenzione risultano terapeuticamente utili nel trattamento di condizioni morbose



in cui si applicano i prodotti steroidei precursori, ma con aumentato beneficio, in termini di migliorata tollerabilità come sopra definito e migliorata efficacia. Infatti contrariamente ad ogni attesa i prodotti della presente invenzione sono caratterizzati dal fatto di mostrare un migliorato profilo terapeutico: elevata attività nelle applicazioni sopra indicate combinata con minori effetti collaterali come sopra definiti. E' stato trovato inaspettatamente che i composti dell'invenzione mostrano minori effetti collaterali, in particolare per quanto riguarda:

- quelli a carico del tessuto osseo, come ad esempio osteoporosi, osteonecrosi e miopatie, che in pazienti affetti da asma o da COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease) possono determinare una marcata riduzione delle capacità respiratorie;
- quelli a carico del sistema cardiovascolare che generano risposte ipertensive e/o disturbi della frequenza cardiaca;
- minore predisposizione alla infezioni;
- quelli a carico dell'apparato gastrointestinale.

I composti oggetto della presente invenzione sono formulati nelle corrispondenti composizioni farmaceutiche, anche a rilascio ritardato, per uso parenterale, orale e topico, come ad esempio sublinguale, inalatorio, suppositorio, transdermico, enema, secondo le tecniche ben note nel ramo, unitamente

agli usuali recipienti; si veda ad esempio il volume "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15a Ed.

La quantità su base molare del principio attivo in queste formulazioni é in genere la medesima, o inferiore, rispetto a quella del corrispondente farmaco precursore.

Le dosi giornaliere somministrabili sono quelle dei farmaci precursori, o eventualmente inferiori. Le dosi giornaliere dei precursori si possono trovare nelle pubblicazioni del ramo, come ad esempio nel "Physician's Desk reference".

I composti della presente invenzione sono utilizzati per il trattamento delle patologie in cui sono impiegati gli steroidi precursori. In particolare, si menziona l'impiego come farmaci nelle malattie reumatiche, nelle patologie renali e bronchiali, nelle malattie oculari e dermatologiche, nelle malattie autoimmuni, nei processi tumorali, anche in combinazione con trattamenti chemioterapici e/o radioterapici, nelle malattie neurodegenerative, ad esempio nelle lesioni spinali da trauma, e nella terapia post-trapianto. Inoltre si possono citare patologie infiammatorie a carico del sistema gastrointestinale (morbo di Crohn, colite ulcerosa e IBD (inflammatory bowel diseases)).

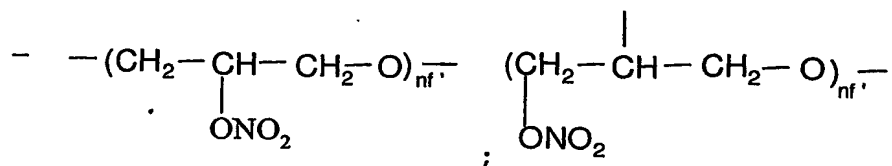
Inoltre la Richiedente ha sorprendentemente ed inaspettatamente trovato che gli steroidi dell'invenzione della classe dei glucocorticoidi possono essere utilizzati, a differenza dei precursori, nelle patologie respiratorie

caratterizzate episodi bronco-ostruttivi. Questo fatto è totalmente inaspettato in quanto i precursori sono sostanzialmente inefficaci in queste condizioni morbose; infatti devono essere associati con bronco-dilatatori quali beta-agonisti come ad esempio salbutamolo.

Per questo uso come broncodilatatori la Richiedente ha trovato che sono efficaci non solo i nitrossiderivati degli steroidi secondo la presente invenzione, ma anche i derivati in cui il pontante  $X_1$  nella formula (I) è un pontante alifatico della classe dei glucocorticoidi di formula (I), scelti tra i seguenti:

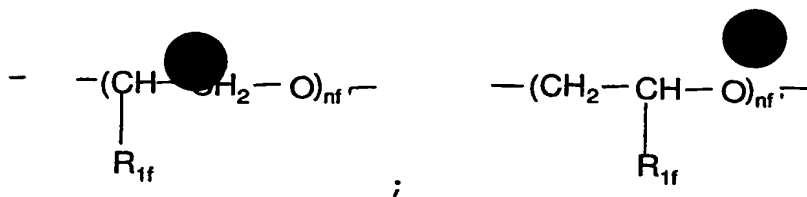
- I) un gruppo alchilenossi  $R'O$  in cui  $R'$  è  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato quando possibile, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un cicloalchilene avente da 5 a 7 atomi di carbonio, nell'anello cicloalchilenico uno o più atomi di carbonio possono essere sostituiti da eteroatomi, l'anello può avere catene laterali di tipo  $R'$ , essendo  $R'$  come sopra definito;

- II) oppure uno dei seguenti gruppi:



in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4;





in cui  $\text{R}_{1f} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $nf'$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4.

Per questo uso si possono utilizzare sia i composti dell'invenzione con i pontanti come sopra definiti sia quelli in cui i pontanti sono scelti tra quelli indicati in I) o in II).

I composti della presente invenzione, a differenza dei precursori, non hanno effetti collaterali sul compartimento osseo, in particolare non inducono riassorbimento osseo, inoltre mostrano una elevata tollerabilità gastrica.

I seguenti esempi vengono dati a titolo illustrativo ma non limitativo della presente invenzione.

## ESEMPIO 1 Confronto

Sintesi di Prednisolone 21-(4-nitroossi)butirrato

## A. Prednisolone 21-(4-clorobutirrato)]

A una soluzione di prednisolone (2,5 g, 7 mmoli) in tetraidrofurano (150 ml), sono stati aggiunti, nell'ordine, trietilamina (3,9 ml) e 4-clorobutirril cloruro (5,2 g). La soluzione è stata tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 4 ore. Il solvente è stato allontanato per evaporazione sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato estratto con una miscela di acetato di etile ed acqua. Le fasi organiche sono state riunite, essiccate con solfato di sodio, poi concentrate a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato cristallizzato da esano/acetato di etile. Il prodotto è stato isolato come un solido giallo (2,9 g).

## B. Prednisolone 21-[(4-nitroossimetil)butirrato]

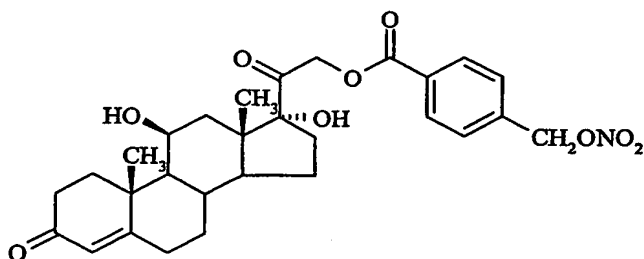
E' stata preparata una soluzione composta da prednisolone 21-(4-clorobutirrato) (2,8 g, 5,5 mmoli) e nitrato di argento (1,87 g, 11 mmoli) in acetonitrile (130 ml) e tetraidrofurano (30 ml), poi rifluida al riparo della luce per 18 ore. Il precipitato, costituito da sali di argento è stato filtrato ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo ottenuto è stato purificato per cromatografia su gel di silice, eluente esano/acetato di etile (6/5 v/v). Il prodotto è stato cristallizzato da tetraidrofurano/n-esano a dare 1,1 g di un solido bianco.

P.f.: 80-85°C.

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO, ppm): 7,38 (1H,d); 6,22 (1H,dd); 5,95 (1H,s); 5,45 (1H,s); 5,16(1H,d); 4,84 (1H,d); 4,76 (1H,d); 4,65 (2H,t); 4,35 (1H,s); 3,35 (2H,m); 2,58 (5H, m); 2,35 (1H,m); 2,15-0,90 (12H,m); 1,42 (3H,s); 0,82 (3H,s).

## ESEMPIO 2

### Sintesi di idrocortisone 21-(4'-nitrossimetil)benzoato



#### A. Idrocortisone 21-[(4'-clorometil)benzoato]

A una soluzione di 0,5 g di idrocortisone in tetra-idrofurano (20 ml) è stata aggiunta trietilamina (0,192 ml) e 4-cloro-benzoil cloruro (0,26 g). La soluzione è stata tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 24 ore. Il solvente è stato poi evaporato sotto vuoto. Il residuo grezzo ottenuto è stato estratto con una miscela di acqua ed acetato di etile. Le fasi organiche sono state riunite, essiccate con solfato di sodio, e concentrate a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice, eluendo con cloruro di metilene/acetone 9/1. Si ottengono 0,6 di un composto solido a temperatura ambiente.

#### B. Idrocortisone 21-[(4'-nitroossimetil)benzoato]

Una soluzione di 2,33 g (4,57 mmoli) di idrocortisone 21-

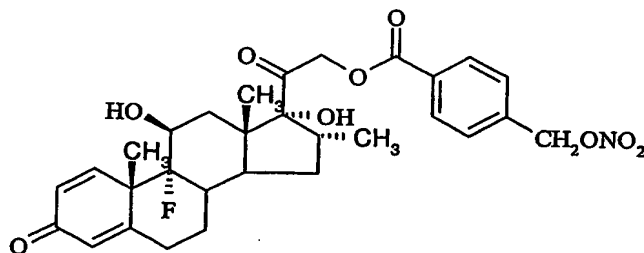
[(4'-clorometil)benzoato] e nitrato di argento (2,39 g) in acetonitrile (90 ml) e tetraidrofurano (70 ml) è stata scaldata alla temperatura di 40°C al riparo dalla luce. Una quantità di nitrato di argento pari a 0,77 g è stata aggiunta una volta al giorno per 5 giorni. Il precipitato formatosi (sali di argento) viene filtrato ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo è stato purificato per cromatografia su gel di silice, eluente n-esano/acetato di etile 6/4. Alla fine vengono isolati 2 g di un solido bianco.

P.f.: 209°C, per DSC.

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO, ppm): 8,09(2H,d); 7,69(2H,d); 5,74(2H,s); 5,62(1H,s); 5,54(1H,s); 5,45-5,05(2H,dd); 4,42(1H,m); 4,35(1H,m); 2,60-0,9(23H,m).

### ESEMPIO 3

#### Sintesi di Desametasone 21-(4'-nitroossimetil)benzoato



#### A. Desametasone 21-[(4'-clorometil)benzoato]

A una soluzione di 5 g (12,74 mmoli) di desametasone in tetraidrofurano (100 ml), vengono aggiunti trietilamina (1,77 ml) e 4-(clorometil)benzoil cloruro (2,4 g). La soluzione viene tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 24 ore.

(HF 2557/061)



Dopo 24 sono state aggiunte le stesse quantità di trietilammina e di acil cloruro sopra indicate. Alla fine il solvente viene evaporato sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato estratto con una miscela di acetato di etile ed acqua. Le fasi organiche riunite sono state essiccate su sodio solfato e poi concentrate a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato per cromatografia su gel di silice, eluente cloruro di metilene/acetone 9/1. Si ottiene un solido (6,19 g) di colore bianco.

B. Desametasone 21-[(4'-nitroossimetil)benzoato]

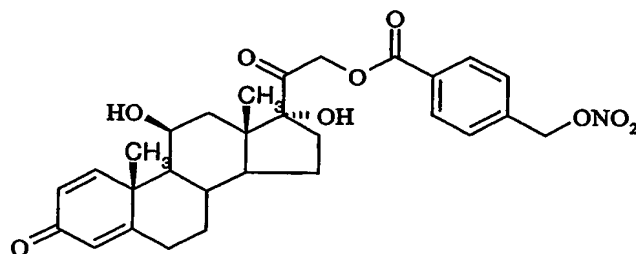
Una soluzione di 6,19 g (11,35 mmoli) di desametasone 21-[(4'-clorometil)benzoato] e nitrato di argento (2,89 g, 17,03 mmoli) in acetonitrile (100 ml) è stata scaldata a 40°C per 190 ore al riparo dalla luce. Si filtra, si recupera il filtrato e si evapora il solvente sotto vuoto. Il residuo è stato purificato per cromatografia su gel di silice, eluente n-esano/acetato di etile 6/4. Il solido è stato cristallizzato con tetraidrofurano/etere etilico. Il prodotto (4,22 g) è stato ottenuto come un solido bianco.

P.f.: 176,8°C.

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO, ppm): 8,10(2H,d); 7,69(2H,d); 7,27(1H,d); 6,25(1H,d); 6,07(1H,s); 5,79(1H,d); 5,74(1H,s); 5,69(1H,d); 5,38(1H,d); 5,29(1H,s); 5,14(1H,d); 4,23(1H,m); 3,96(1H,m); 2,76-2,103(1H,m); 1,90-1,32(7H,m); 1,14-0,87(7H,m).



## ESEMPIO 4

Sintesi di Prednisolone 21-((4'-nitrossimetil)benzoato)

## A. Prednisolone 21-[(4'-clorometil)benzoato]

A una soluzione di 12 g (33,29 mmoli) di prednisolone in tetraidrofurano (230 ml) vengono aggiunti trietilamina (4,64 ml) e 4'-(cloro metil)benzoil cloruro (6,29 g). La soluzione viene tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente e dopo un giorno il solvente è stato evaporato sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato estratto con una miscela di acetato di etile ed acqua. Le fasi organiche riunite sono state essiccate su solfato di sodio e poi concentrate a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice impiegando come eluente cloruro di metilene/acetone 8/2. Il prodotto (16,53 g) è stato ottenuto come un solido bianco.

## B. Prednisolone 21-[(4'-nitrossimetil)benzoato]

Una soluzione di 16 g (31,19 mmoli) di prednisolone 21-[(4'-clorometil)benzoato] e nitrato di argento (7,42 g, 43,66 mmoli) in acetonitrile (100 ml) e tetraidrofurano (200 ml) è stata scaldata al riflusso al riparo dalla luce per 35 ore. Il precipitato formatosi (sali di argento) è stato filtrato ed il

solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice, eluente cloroformio/acetone/tetraidrofurano 4/1/1. Il prodotto (13,3 g) è stato cristallizzato da tetraidrofurano (450 ml)/n-esano (250 ml). Sono stati ottenuti 10,34 g di un solido bianco.

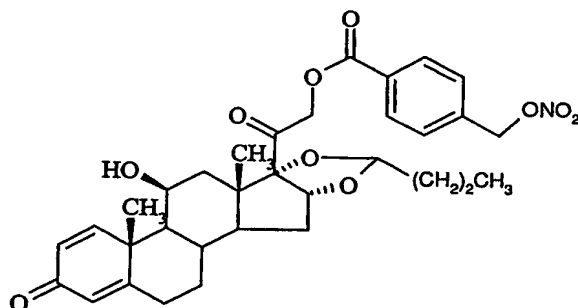
P.f.: 232,5°C per DSC.

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO, ppm): 8,15(2H,d); 7,75(2H,d); 7,45(1H,d); 6,28(1H,dd); 6,04(1H,s); 5,80(2H,s); 5,46(1H,d); 5,16(1H,d); 4,43(1H,m); 2,63-1.06(13H,m); 1,47(3H,s); 0,95(3H,s).

$^{13}\text{C-NMR}$  (200MHz, DMSO, ppm): 205,298; 185,594; 171,023; 164,962; 157,118; 138,099; 129,759; 129,126; 127,023; 121,580; 88,725; 74,096; 68,362; 55,449; 51,168; 47,265; 43,916; 33,992; 33,146; 31,453; 30,955; 23,554; 20,878; 16,560.

#### ESEMPIO 5

#### Sintesi di Budesonide 21-(4'-nitrossimetil)benzoato



#### A. Budesonide 21-[(4'-clorometil)benzoato]

A una soluzione di budesonide (5 g) in tetraidrofurano (100 ml) vengono aggiunti trietilamina (1,62 ml) e 4-(clorometil)benzoil cloruro (2,19 g). La soluzione è stata tenuta

sotto agitazione a temperatura ambiente e dopo 4 ore sono state aggiunte le medesime quantità di trietilamina e di acil cloruro sopra indicate. La soluzione è stata tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per altre 24 ore. Alla fine il solvente è stato rimosso per evaporazione sotto vuoto ed il residuo ottenuto è stato estratto con una miscela di acetato di etile ed acqua. Le fasi organiche sono state essiccate su solfato di sodio e poi concentrate a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato per cromatografia su gel di silice, eluente cloruro di metilene/acetone 10/1. Il prodotto (6,53 g) è stato ottenuto come un solido bianco.

P.f.: 106-110°C.

B. Budesonide 21-[(4'-nitroossimetil)benzoato]

Una soluzione di budesonide 21-[(4'-clorometil)benzoato] (6,5 g) e nitrato di argento (3,8 g) in acetonitrile (100 ml) è stata scaldata al riflusso al riparo dalla luce per 25 ore. Il precipitato formatosi (sali di argento) viene rimosso per filtrazione ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo viene purificato per cromatografia su gel di silice, eluente n-esano/etil acetato 6/4 v/v. Il prodotto (4,65 g) è stato ottenuto come un solido bianco.

P.f.: 96°C (DSC).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO, ppm): 8,05(2H,d); 7,63(2H,d); 7,32(1H,m); 6,17(1H,d); 5,91(1H,s); 5,67(2H,d); 5,31-5,00(2H,m); 4,75-4,72(1H,m); 4,34(1H,m); 2,51(2H,m); 2,26(2H,m); 1,98-



1,94(4H,m); 1,55-1,54(4H,m); 1,39-1,35(5H,m); 0,96-0,85(7H,m).

#### ESEMPIO 6 Confronto

##### Sintesi di Budesonide 21-(4-nitrossi)butirrato

##### A. Budesonide 21-(4'-clorobutirrato)]

A una soluzione di Budesonide (1 g, 2,32 mmoli) in tetra-idrofurano (20 ml), sono stati aggiunti, nell'ordine, trietilamina (0,32 ml) e 4-bromobutirril cloruro (0,27 ml). Dopo 5 ore si aggiungono trietilammina e l'acil cloruro nelle medesime quantità sopra indicate. La soluzione è stata tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 16 ore. Si ripetono le medesime fasi del procedimento descritto nell'esempio 1 confronto A. Il prodotto è stato isolato come un solido bianco (1,18 g).

##### B. Budesonide 21-[(4-nitroossimetil)butirrato]

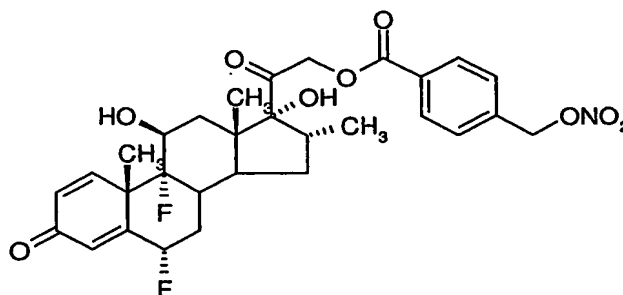
E' stata preparata una soluzione composta da Budesonide 21-(4'-bromobutirrato) (1,18 g, 2,03 mmoli) e nitrato di argento (0,52 g, 3,04 mmoli) in acetonitrile (50 ml) e tetraidrofurano (30 ml), poi rifluita al riparo della luce per 48 ore. Il precipitato, costituito da sali di argento è stato filtrato ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo ottenuto è stato purificato per cromatografia su gel di silice, eluente cloruro di metilene/acetato di etile (6/5 v/v). Si sono ottenuti 850 mg di un solido bianco.

P.f.: 142,5-144,5°C.

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO) ppm: 7,32(1H,dd); 6,15(1H,d); 5,92(1H,s);

5,2-5,1(1H,m); 5,02(1H,m); 4,84(1H,m); 4,7(1H,m); 4,7(1H,m);  
 4,58(1H,m); 4,56(2H,t); 4,3(1H,m); 2,55(2H,t); 2,3(1H,m); 2,2-  
 0,9(16H,m); 1,39(3H,s); 0,87 (6H,m).

## ESEMPIO 7


Sintesi di Flumetasone 21-((4'-nitrossimetil)benzoato)

## A. Flumetasone 21-[(4'-clorometil)benzoato]

A una soluzione di Flumetasone (1 g, 2,43 moli) in tetraidrofurano (40 ml) vengono aggiunti trietilamina (0,34 ml) e 4-(clorometil)benzoil cloruro (0,46 g). La soluzione è stata tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente e dopo 24 ore sono state aggiunte le medesime quantità di trietilamina e di acil cloruro sopra indicate. La soluzione è stata tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per altre 24 ore. Si ripete quindi il procedimento descritto nell'esempio 5. Il prodotto (0,52 g) è stato ottenuto come un solido bianco.

## B. Flumetasone 21-[(4'-nitroossimetil)benzoato]

Una soluzione di Flumetasone 21-[(4'-clorometil)benzoato] (0,47 g) e nitrato di argento (0,21 g) in acetonitrile (100 ml) è stata scaldata a 40°C al riparo dalla luce per 30 ore. Il precipitato formatosi (sali di argento) viene rimosso per

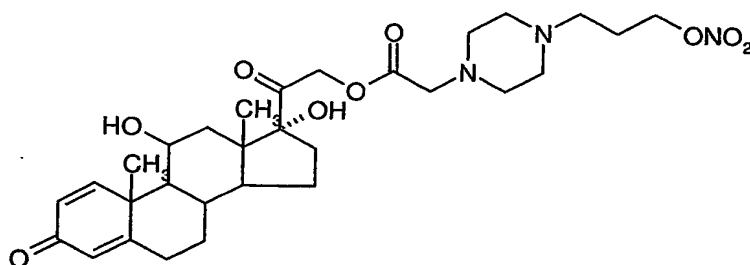
filtrazione ed  solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo viene purificato per cromatografia su gel di silice, eluente n-esano/etil acetato 1/1 v/v. Il prodotto (0,2 g) è stato ottenuto come un solido bianco.

P.f.: 115-120°C.

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO) ppm: 8,02(2H,d); 7,61(2H,d); 7,26(1H,m); 6,30(1H,d); 6,10(1H,s); 5,66(2H,s); 5,51(1H,m); 5,30(1H,d); 5,26(1H,s); 5,07(1H,d); 4,20(1H,m); 2,90(1H,m); 2,20(3H,m); 1,80-1,60(6H,m); 1,48(3H,s); 0,91(3H,s); 0,83(3H,d).

#### ESEMPIO 8

Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-(3-nitroossipropil) piperazin-1-il]acetato]



#### A. Sintesi di cloroacetil-prednisolone

Ad una soluzione di Prednisolone (1 mmole, 360 mg) in 10 ml di THF anidro si aggiunge TEA (1,1 mmoli, 153  $\mu\text{l}$ ). Il sistema viene raffreddato in un bagno di acqua e ghiaccio ed a freddo si aggiunge il cloroacetilcloruro (1,1 mmoli, 87  $\mu\text{l}$ ). La miscela di reazione viene portata a temperatura ambiente (23°C) e mantenuta sotto agitazione per 3 ore. Si diluisce la miscela di reazione con AcOEt (10 ml) e acqua (10 ml). Si separano le due fasi: la fase organica viene ripresa con brine

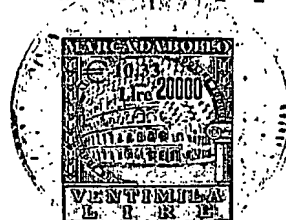
(5 ml), anidrificata e tirata a secco. Il residuo ottenuto viene precipitato con etere di petrolio: dopo filtrazione si ottengono 420 mg di prodotto (resa 95%) come un solido marrone chiaro. Il prodotto viene utilizzato tal quale per la reazione successiva senza ulteriori purificazioni.

B. Sintesi di N'-t-butossicarbonil-N-(3-cloropril) piperazina

N-t-butossicarbonilpiperazina (3 mmoli, 558 mg) (preparata seguendo la procedura descritta da Boschi D. et Al. Arch. Pharm. 1994, 327, 661-667) viene sciolta in 15 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, ed a questa soluzione si aggiunge TEA (3,3 mmoli, 0,46 ml) e si porta a  $0^\circ\text{C}$ . A freddo si aggiunge il 1-bromo-3-cloropropano (3,3 moli, 0,32 ml), si manda a riflusso ( $50^\circ\text{C}$ ). Dopo 3 ore si aggiunge la stessa quantità di TEA e di 1-bromo-3-cloropropano e si mantiene la reazione a riflusso per 24 ore. Si elimina il solvente a pressione ridotta, il grezzo viene sciolto in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml), lavato con acqua (10 ml). La fase organica viene lavata con brine (10 ml), anidrificata, il solvente eliminato a pressione ridotta ed il residuo purificato mediante cromatografia su gel di silice, utilizzando AcOEt: Etere di petrolio 8:2 (v/v) come eluente. Sono stati ottenuti 470 mg di prodotto (resa 60%) come un olio molto denso.

C. Sintesi di N-3-cloropropilpiperazina biscloridrato

7,5 mmoli di N'-t-butossicarbonil-N-(3-cloropropil) piper-



razina (1,96 g) vengono sciolti a 0°C in una miscela di HCl/AcOEt (50 ml). Si lascia il sistema in un bagno di acqua e ghiaccio per 1 ora, poi un'altra ora a temperatura ambiente (23°C): si nota la formazione di un precipitato bianco. Trascorso questo tempo si elimina il solvente a pressione ridotta, si riprende con etere etilico e si filtra. Si ottengono 1,76 g di prodotto (p.f. 237-239) che viene usato senza ulteriori purificazioni per la reazione successiva.

D. Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-(3-cloropropil) piperazin-1-il]acetato]

Ad una soluzione di cloroacetilprednisolone (1 mmole, 437 mg) in 5 ml di DMF anidra si aggiunge il bis-cloridrato della N-3-cloropropilpiperazina (1,2 mmoli, 282 mg). Si raffredda la miscela a 0°C in un bagno di ghiaccio e si aggiunge TEA (4 mmoli, 0,56 ml). Si lascia sotto agitazione la miscela a temperatura ambiente per 18 ore, quindi si versa la miscela in acqua (5 ml) e si estrae con AcOEt (2x10 ml). Gli estratti organici riuniti vengono lavati con brine, anidrificati e tirati a secco. Il residuo oleoso giallo così ottenuto viene purificato mediante cromatografia su gel di silice eluendo prima con AcOEt e quindi con la miscela AcOEt/MeOH 9,5:0,5 (v/v).

Il prodotto ottenuto dopo la purificazione cromatografica viene cristallizzato con etere etilico, ottenendo 310 mg di prodotto (55% di resa) come un solido giallo.



E. Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-(3-nitroossipropil) piperazin-1-il]acetato]

Prednisolone-21-[2-[4-(3-cloropropil)piperazin-1-il] acetato] (0,55 mmoli, 310 mg) viene sciolto in 8 ml di CH<sub>3</sub>CN anidro e 6 ml di THF anidro, ed a questa soluzione si aggiunge AgNO<sub>3</sub> (1,65 mmoli, 280 mg) e si manda a riflusso (100°C) sotto azoto, al riparo dalla luce per 5 ore. Si filtra e si evapora il solvente a pressione ridotta. Il residuo viene purificato mediante cromatografia su gel di silice utilizzando una miscela eluente di AcOEt/MeOH 9:1 (v/v). Sono stati ottenuti 155 mg di prodotto come solito marrone (resa 48%).

P.f.: 116-118°C.

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO) ppm: 7,33 (1H,d); 6,16(1H,d); 5,92(1H,s); 5,1(1H,d); 4,8(1H,d); 4,7(1H,s); 4,6(2H,t); 4,3(1H,s); 4,2(2H,t); 3,5(2H,t); 2,44(10H,s); 2,3-1,62(13H,m); 1,4(3H,s); 0,9 (3H,s).

#### ESEMPIO 9

Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-(3-nitroossipropil) piperazin-1-il]acetato] biscloridrato

Il composto isolato alla fine dell'esempio 8 (50 mg) viene sciolto in 6 ml di una miscela MeOH/DCM (diclorometano)(1:1). Alla soluzione raffreddata a 0°C si aggiungono alcune gocce di una soluzione HCl/MeOH. Dopo 5 minuti a 0°C si elimina il solvente a pressione ridotta e il residuo viene trattato con etere etilico. Si forma un solido

bianco che viene filtrato.

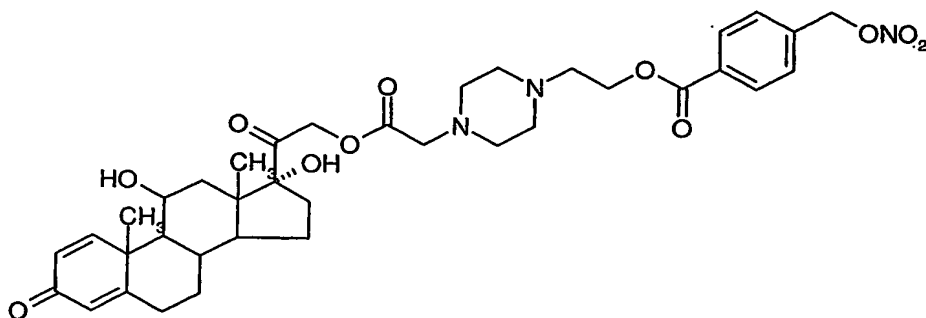
P.f.: >240°C.

Analisi elementare:

	C%	H%	N%	Cl%
Teorico	54,6	6,83	6,33	10,7
Trovato	54,4	6,9	6,25	10,85

#### ESEMPIO 10

Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-[2-[(4'-nitroossi metil) benzilossietil]piperazin-1-il]acetato]



A. Sintesi di prednisolone-21-[2-[4-(2-idrossietil)-piperazin-1-il]-acetato]

Ad una soluzione di cloroacetilprednisolone (1,5 mmoli, 660 mg) in 15 ml di THF anidro si aggiunge a freddo (bagno acqua e ghiaccio) N-2-idrossietilpiperazina (15 mmoli 1,95 g) sciolta in 15 ml di THF anidro. Dopo 30 minuti si porta la miscela a temperatura ambiente e dopo 18 ore si filtra e si elimina il solvente a pressione ridotta. Il residuo viene purificato mediante cromatografia su gel di silice utilizzando prima una miscela DCM-MeOH 9:1 (v/v) poi una miscela in rapporto DCM-MeOH 8:2 (v/v).

(HF 2557/061)

B. Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-[2-[(4'-clorometil) benzoilossi]etil]piperazin-1-il]acetato]

Il composto isolato alla fine del precedente passaggio (570 mg, 1,1 mmoli) viene sciolto in 10 ml di una miscela acetonitrile/THF (4:1 v/v) ed alla soluzione, raffreddata a 0°C, si aggiunge TEA (0,3 ml, 2,15 mmoli) ed il p-clorometilbenzoil cloruro (233 mg, 1,18 mmoli). Si porta la miscela di reazione a temperatura ambiente, si tira a secco dopo 3 ore, si riprende il residuo con acqua (5 ml) e DCM (3x10 ml). Gli estratti organici riuniti vengono lavati con brine (5 ml), anidrificati su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e tirati a secco. Dal grezzo purificato per flash-cromatografia (DCM/MeOH 9,5/0,5) si recuperano 731 mg di prodotto (resa 80%) come un solido bianco.

P.f.: 215-217°C.

C. Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-[2-[(4'-nitroossi metil) benzoilossi]etil]piperazin-1-il]acetato]

Prednisolone-21-[2-[4-(4'-clorometilbenzoilossi)propil piperazin-1-il]acetato] (0,82 mmoli, 560 mg) viene sciolto in una miscela costituita da CH<sub>3</sub>CN anidro (16 ml) e THF anidro (12 ml). Si aggiunge AgNO<sub>3</sub> (24,6 mmoli, 418 mg). La miscela viene scaldata a riflusso al riparo dalla luce per 3 ore. Si filtra e si elimina il solvente a pressione ridotta. Il residuo viene purificato mediante cromatografia su gel di silice, utilizzando una miscela AcOEt/MeOH 9/1 (v/v). Sono stati ottenuti 560 mg di prodotto (96%).

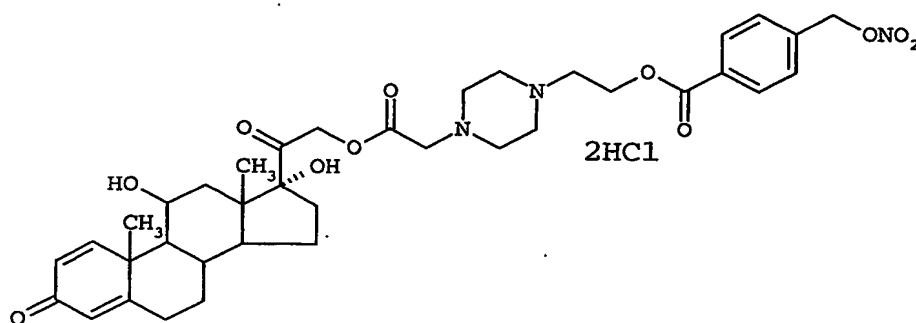


P.f.: 206-208°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO) ppm: 8,0(2H,d); 7,61(2H,d); 6,16(1H,d); 5,67(2H,s); 5,41(1H,s); 5,1(1H,d); 4,82(1H,d); 4,2(1H,s); 4,4(2H,t); 4,3(1H,s); 3,5(2H,t); 2,7-2,5(10H,m); 2,3-1,6(13H,m); 1,39(3H,s); 0,8(3H,s).

## ESEMPIO 11

Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-[2-[(4'-nitroossi metil) benzoilossi]etil]piperazin-1-il]acetato]biscloridrato

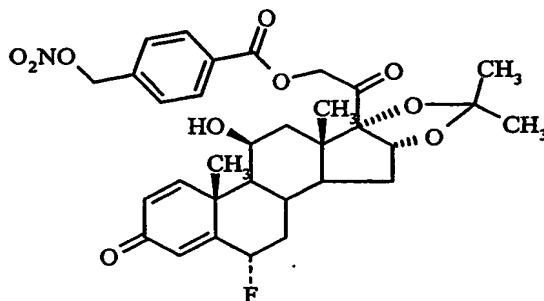


Prednisolone-21-[2-[4-(4'-nitroossimetilbenzoilossi) propil piperazin-1-il]acetato] 50 mg vengono sciolti in 6 ml di una miscela MeOH/DCM (diclorometano)(1:1) e alla soluzione raffreddata a 0°C si aggiungono alcune gocce di una soluzione di HCl/MeOH. Dopo 5 minuti si filtra il precipitato che si è formato ottenendo un solido bianco.

Analisi elementare:

	C%	H%	N%	Cl%
Teorico	56,7	6,30	5,36	9,05
Trovato	56,6	6,40	5,25	9,15

## ESEMPIO 12

Sintesi di Flunisolide 21-[(4'-nitrossimetil)benzoato]

## A. Flunisolide 21-[(4'-clorometil)benzoato]

A una soluzione di 1,48 g di flunisolide in tetra-idrofurano (50 ml) vengono aggiunti trietilamina (0,71 ml) e 4-(cloro metil)benzoil cloruro (0,96 g). La soluzione viene tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente e dopo un giorno vengono aggiunti trietilamina (0,23 ml) e 4-(cloro metil)benzoil cloruro (0,32 g). Dopo 48 ore si evapora il solvente sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato estratto con una miscela di acetato di etile ed acqua. Le fasi organiche riunite sono state essiccate su solfato di sodio e poi concentrate a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice impiegando come eluente cloruro di metilene/acetone 8/2. Il prodotto (1,08 g) è stato ottenuto come un solido bianco.

## B. Flunisolide 21-[(4'-nitrossimetil)benzoato]

Una soluzione di 1,07 g di flunisolide 21-[(4'-cloro metil)benzoato] e nitrato di argento (0,62 g) in acetoni-trile (50 ml) e tetraidrofurano (20 ml) è stata scaldata a

60°C al riflus. al riparo dalla luce per 20 ore. Nei tre giorni successivi si mantiene la miscela di reazione nelle stesse condizioni e si aggiunge, ogni giorno, una quantità di argento nitrato pari a un equivalente (0,31 g), il precipitato formatosi (sali di argento) è stato filtrato ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice, eluente cloruro di metilene/acetato di etile 9/1. Il prodotto (0,5 g) è stato cristallizzato da cloruro di metilene/n-esano. Sono stati ottenuti 0,4 g di un solido bianco.

P.f.: 223-225°C.

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO, ppm): 8,05(2H,d); 7,65(2H,d); 7,30(1H,d); 6,25(1H,d); 6,03(1H,s); 5,72(1H,d); 5,69(2H,s); 5,40-5,60(2H,m); 4,91(2H,d); 4,88(1H,dd); 2,4(1H,m); 2,20(1H,m); 1,87(2H,s); 1,57-1,00(5H,m); 1,42(3H,s); 1,39(3H,s); 1,22(3H,s); 0,88 (3H,s).

#### ESEMPIO 13

Sintesi di Prednisolone-21-[2-[4-(3-nitroossipropil) piperazin-1-il]acetato] bis-trifluorometanacetato

Il composto isolato alla fine dell'esempio 8 (50 mg) viene sciolto in 5 ml di acetonitrile. Alla soluzione raffreddata a 0°C si aggiungono alcune gocce di una soluzione di acido trifluoroacetico (0,4 ml) in acetonitrile (4 ml). Dopo 5 minuti a 0°C si elimina il solvente a pressione ridotta e il residuo viene trattato con etere etilico. Si forma un solido

bianco che viene filtrato.

Analisi elementare:

	C%	H%	N%	F%
Teorico	49,94	5,54	5,14	13,94
Trovato	49,89	5,50	5,18	13,92

#### ESEMPI FARMACOLOGICI

Esperimenti di Binding recettoriale

L'interazione tra le molecole degli steroidi con specifiche proteine recettoriali situate nei tessuti degli organi bersaglio, determina l'attivazione del recettore e induce una serie di trasformazioni biochimiche e fisiologiche all'interno dei tessuti, le quali costituiscono l'effetto farmacologico degli steroidi.

La capacità di una sostanza di legarsi ad un recettore specifico (affinità) e di attivare il recettore stesso (efficacia) è quindi una misura della sua attività farmacologia.

L'efficacia dei nitroossiderivati secondo la presente invenzione e dei corrispondenti nitroossiderivati con pontante alifatico, è stata determinata in un modello di binding a un recettore dei glucorticoidi.

In questi esperimenti sono stati utilizzati monociti umani che presentano sulla loro superficie recettori per i glucocorticoidi.

Il corticosteroide legandosi al recettore attiva la



proteina di membrana umana CD163, isolata e caratterizzata da Morganelli P.M. et al., J. Immunol., 1988, 140, 2296-2304.

L'attivazione di questa proteina di membrana è correlata alla risposta farmacologica mediata dai corticosteroidi. (Resnick D., et al., 1994 Trends Biochem. Sci. 19, 5-8; Hogger P. et al., J. Immunol., 1998, 161, 1883-1890; Hogger P. et al., Pharm. Res., 15, 296-302, A. Droste et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 256, 110-113, 1999).

#### ESEMPIO F1

In questo esperimento è stata valutata la capacità delle sostanze in esame di spostare <sup>3</sup>H-dexamethasone dai siti di legame per i glucorticoidi presenti nei monociti umani.

I monociti sono stati isolati da sangue umano mediante un metodo su gradiente di densità (Ficoll-Hypaque d=1,077). Le cellule isolate sono state trasferite in provette (1x10<sup>6</sup> cellule, le misure sono state condotte in doppio) contenenti il medium di coltura RPMI 1640 e glutamina 1%). Ad ogni provetta sono stati quindi aggiunti, nell'ordine. <sup>3</sup>H-dexamethasone (50nM in DMSO) e i composti in esame sciolti nello stesso solvente (DMSO) alle concentrazioni indicate nelle Tabelle qui sotto riportate. Il contenuto delle provette è stato mescolato utilizzando una apparecchiatura Vortex. Le provette sono state poi incubate a 37°C per 1 ora.

Dopo l'incubazione, le cellule sono state lavate per 4 volte con una soluzione salina in tampone fosfato raffreddata



in bagno di ghiaccio (PBS, 0,01 M) e la quantità di [ $^3\text{H}$ ]-dexamethasone legata alle cellule è stata determinata mediante scintigrafia liquida. Per ogni campione la concentrazione di [ $^3\text{H}$ ]-dexamethasone legato alle cellule (femtomoli (fmoli)/ml =  $10^{-15}$  moli/ml) è stata calcolata sottraendo ai valori misurati il valore del legame non specifico, e poi moltiplicando per il rapporto molarità/radioattività.

Gli esperimenti sono stati effettuati utilizzando i seguenti composti:

- Idrocortisone-21-(4-nitrossibutirrato) (Hydr-C<sub>4</sub>-ONO<sub>2</sub>) preparato come descritto in WO 98/15568;
- Idrocortisone 21-(4'-nitroossimetil)benzoato (Hydr-Ar-ONO<sub>2</sub>) (es. 2);
- Desametasone-21-(4-nitrossibutirrato) (Dex-C<sub>4</sub>-ONO<sub>2</sub>), sintetizzato come descritto in WO 98/15568;
- Desametasone 21-(4'-nitroossimetil)benzoato (Dex-Ar-ONO<sub>2</sub>) (es. 3);
- Prednisolone-21-(4-nitrossibutirrato) (Predn-C<sub>4</sub>-ONO<sub>2</sub>), sintetizzato come descritto in WO 98/15568;
- Prednisolone 21-(4'-nitroossimetil)benzoato (Predn-Ar-ONO<sub>2</sub>) (es. 4);
- Prednisolone-21-[2-[4-(3-nitroossipropil) piperazin-1-il]acetato] bis cloridrato (Predn-pyper-ONO<sub>2</sub>) (es. 9);
- prednisolone-21-[2-(3-nitroossipropil)-piperazin-1-il]acetato bis trifluorometanacetato (Predn-pyper-C<sub>3</sub>-ONO<sub>2</sub>)

(es. 13).

I dati riportati nelle Tabelle sono espressi come fmol [ $^3\text{H}$ ]-dexamethasone /ml.

In Tabella 1 sono riportati i risultati ottenuti con Hydr-Ar- $\text{ONO}_2$  e per confronto quelli con Hydr- $\text{C}_4$ - $\text{ONO}_2$ ;

In Tabella 2 sono riportati i risultati ottenuti con Dex-Ar- $\text{ONO}_2$  e per confronto quelli con Dex- $\text{C}_4$ - $\text{ONO}_2$ .

In Tabella 3 sono riportati i risultati ottenuti con Predn-Ar- $\text{ONO}_2$ , Predn-pyper- $\text{ONO}_2$ , Predn-pyper-Ar- $\text{ONO}_2$  e per confronto quelli con Predn- $\text{C}_4$ - $\text{ONO}_2$ .

I risultati dimostrano che i nitroossi derivati steroidei dell'invenzione sono più attivi di quelli in cui il gruppo nitroossi è legato al pontante bivalente alifatico  $\text{C}_4$ .

#### ESEMPIO F2

Influenza dei composti dell'invenzione sui parametri cardiocircolatori

Topi maschi Sprague Dawley normotensivi sono stati divisi in gruppi e trattati, rispettivamente, con Prednisolone 21-[(4'-nitroosimetil) benzoato] (es. 3) 5 mg/Kg/die i.p. per 3 settimane e con il precursore alla medesima dose. I controlli sono stati trattati con il veicolo (olio di arachide 0,5 ml/topo/die i.p. per 3). Alla fine del trattamento è stata controllata nei topi a pressione arteriosa media (MABP) ed il battito cardiaco. La MABP basale dei controlli è stata di  $110 \pm 4$  (n = 9), nel gruppo trattato con prednisolone è stata di

154  $\pm$  7 (n = 8  $<$  0,01) e in quello trattato con il composto nitrossiderivato 128  $\pm$  7 (n = 9 p  $<$  0,05). Per quanto riguarda il battito cardiaco è stato trovato che il nitrossi derivato del Prednisolone non influisce significativamente su questo parametro (controllo 330  $\pm$  32 n = 9; gruppo trattato 348  $\pm$  18, n = 9).

### ESEMPIO F3

Effetto della Budesonide 21-[(4'-nitrooxymethyl)benzoate] (NO-Budesonide) (es. 5) vs. il precursore Budesonide sulla broncocostrizione indotta da istamina nelle cavie

Cavie di sesso maschile di peso compreso tra 250 e 300 g per diversi giorni prima dell'inizio dell'esperimento, sono stati abituati all'apparecchiatura pletismografica (restrained and whole-body plethysmograph). Istamina (3mM sciolta in soluzione salina 0,9%) è stata somministrata per via intranasale per 20 secondi 24 ore prima e 15 minuti dopo la somministrazione dei composti in esame, NO-Budesonide (635  $\mu$ g/ml) e Budesonide (448  $\mu$ g/ml) sciolti in miscela (v/v) DMSO 20%, etanolo 10%, soluzione fisiologica salina 70%, oppure il veicolo, sono stati somministrati agli animali come aerosols, in una camera sigillata, usando un nebulizzatore wright funzionante con aria compressa a una pressione di 21,38x10<sup>3</sup> Pa (20 p.s.i.) e un flusso di 0,5 ml/min. La somministrazione durava 15 minuti.

Per monitorare la funzionalità delle vie aree degli



animali è stata utilizzata la pletismografia "whole body". Gli animali erano vigili e la funzionalità è stata determinata come conduttanza specifica delle vie aeree ( $sG_{aw}$ ), espressa come cambio % del valore basale nell'istante immediatamente successivo all'esposizione. A questo scopo gli animali venivano provvisti di una apposita maschera e poi trasferiti in una camera sigillata. Il flusso respiratorio è stato misurato con un pneumotacografo e un trasduttore di pressione. Una diminuzione in  $sG_{aw}$  indica broncocostrizione.

I dati riportati in Tabella 4 mostrano che NO-budesonide inibisce completamente (inibizione del 100%) la broncocostrizione indotta da istamina. Budesonide somministrato alla stessa dose molare invece peggiora la broncocostrizione indotta da istamina.

#### ESEMPIO F4

Confronto tra l'attività anti-artritica di prednisolone-21-(4'-nitroossimetil) benzoato (es. 4) vs. prednisolone

In questo esperimento farmacologico in vivo è stata determinata l'attività anti-artritica del prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato vs. il prednisolone in un modello di artrite nel ratto.

Ratti Lewis femmine del peso di 150-200 g nutriti con una dieta standard e con libero accesso all'acqua sono stati stabulati con cicli di 12 ore luce/buio.

Per effettuare l'esperimento, i ratti venivano aneste-

tizzati con alburno (giorno zero), poi alla base della coda, mediante iniezione intradermica, veniva iniettata una sospensione di collagene II/Freund's incomplete adjuvant (400 µg/ratto) preparata come qui di seguito descritto: collagene nasale bovino di tipo II (Sigma-Aldrich, 4 mg/ml) è stato sciolto in acido acetico (0,01M) e emulsionato con uno stesso volume di Freund's incomplete adjuvant (Sigma-Aldrich) freddo.

La patologia artritica diventava manifesta tra 11° e 13° giorno, con un massimo di infiammazione al 18° giorno nei non trattati.

Dal 12° al 18° giorno successivi all'iniezione i ratti, divisi in 3 gruppi di 10 animali ciascuno, sono stati trattati i.p. secondo il seguente protocollo:

- Gruppo 1: prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato (4 µmoli/kg);
- Gruppo 2: prednisolone (4 µmoli/kg);
- Gruppo 3: controllo veicolo (olio di semi di arachidi 0,5 ml/kg, i.p.).

Un quarto gruppo di ratti sani (naive) è stato preso come ulteriore riferimento.

Durante il trattamento con i composti in esame l'attività anti-artritica è stata valutata mediante i seguenti parametri:

- volume medio delle zampe determinato mediante un pletismometro;

- valutazione clinica della funzionalità dell'anca mediante una scala arbitraria (score) da 0 (assenza di infiammazione) a 3 (infiammazione grave, che coinvolge sia l'articolazione dell'anca che la zampa dell'animale).

Il 18° giorno i ratti sono stati sacrificati e sono stati misurati i diametri delle articolazioni femorali delle zampe posteriori degli animali dopo rimozione della pelle ed è stata effettuata un'analisi istologica delle articolazioni.

Dall'analisi istologica dei tessuti è risultato nel gruppo trattato con prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato normali, si è osservato che sia l'infiammazione sinoviale che l'infiltrazione di cellule infiammatorie nelle cartilagini era minima, senza compromissione delle cartilagini, mentre nel gruppo di ratti trattati con prednisolone sono presenti, seppur in misura minore rispetto al gruppo di controllo non trattato, ulcerazioni della cartilagine e infiammazione sinoviale.

In tabella 5 sono riportate:

- le dimensioni delle articolazioni espresse in mm,
- la riduzione percentuale della dimensione delle articolazioni calcolata rispetto al gruppo di ratti di controllo trattato solo con la sospensione di collagene,
- il volume medio delle zampe, espresso in ml, misurato al giorno,
- la valutazione score della funzionalità dell'anca.

I risultati dimostrano che Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato ha una potente attività antiinfiammatoria nell'artrite indotta da collagene nel ratto, maggiore rispetto al Prednisolone sui parametri che sono stati presi in considerazione.

#### ESEMPIO F5

Attività osteoclastica di Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato (es. 4) vs. Prednisolone

L'assunzione di Prednisolone e in generale di glucocorticoidi provoca un aumento del metabolismo osseo con conseguente perdita in peso delle ossa che causa un elevato rischio di sviluppo di osteoporosi e conseguente fragilità ossea.

Una sospensione di osteoclasti primari di ratto preparata come descritto in Mancini L. et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 1998, 243, 785-790, è stata posta su due piastre di coltura a 24 pozzetti, rivestite con calcio fosfato apatite. Dopo 30 minuti a 37°C le cellule non adese sono state rimosse. A ciascuna piastra sono stati aggiunti, rispettivamente, prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato e prednisolone (concentrazione finale 1 nM). Le piastre sono state incubate a 37°C per 18 ore. Alla fine le piastre sono state trattate con una soluzione di ipoclorito di sodio (10% v/v) per rimuovere le cellule e determinare le aree.

I campioni ottenuti sono stati analizzati con un



microscopio invertito (Diaphot TMD; Nikon, Japan) collegato a un sistema di acquisizione di immagini (Argus-10, Hamamatsu Photonics, Enfield, UK). E' stata calcolata per ogni piastra la somma delle singole aree di riassorbimento ed il valore ottenuto è stato espresso come percentuale rispetto al valore dell'area media del pozzetto.

I risultati sono riportati in Tabella 6 e mostrano che mentre il prednisolone stimola l'attività degli osteoclasti il prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato non induce riassorbimento osseo.

#### ESEMPIO F6

Determinazione del danno gastrico indotto da ischemia-reperfusion di Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil) benzoato vs. Prednisolone

In questo esperimento sono stati confrontati gli effetti di prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato e prednisolone sul danno gastrico indotto da ischemia-reperfusion.

Le arterie celiache di ratti anestetizzati (6 animali/gruppo) sono state occluse temporaneamente con una pinza chirurgica e una soluzione di HCl (1 ml, 0,1N) è stata introdotta nel lume gastrico. Dopo 30 minuti dall'introduzione della soluzione acida la circolazione è stata riattivata e dopo 60 minuti dal ripristino della circolazione sanguigna il danno gastrico è stato determinato mediante un indice arbitrario di intensità delle lesioni (LI).



Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato e prednisolone (28  $\mu$ mol/kg) sono stati somministrati ai ratti per via orale 2 ore prima dell'ischemia.

I risultati riportati in Tabella 7 dimostrano che il prednisolone aumenta il danno gastrico indotto da ischemia-riperfusion, mentre Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil) benzoato non aggrava l'ulcera gastrica sperimentalmente indotta.

#### ESEMPIO F7

Effetto di Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato e Prednisolone sul recupero delle funzioni motorie nel ratto dopo l'induzione di lesioni spinali da trauma

Ratti (n. 3 gruppi di 10 animali ciascuno) sono stati sottoposti ad un trauma mediante caduta di un peso (10 g) a livello toracico della colonna vertebrale. In questo modo viene provocata una lesione spinale, che determina una marcata compromissione della funzione motoria. Dopo il trauma, i ratti vengono trattati una volta al giorno per 5 giorni con Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato (sciolto in soluzione salina/etanolo 1:8, 20 mg/kg, s.c.) e Prednisolone (20 mg/kg, s.c., sciolto allo stesso modo) o con solo il veicolo.

Il comportamento degli animali viene valutato al terzo, quinto e settimo giorno successivi al trauma mediante un punteggio multiplo (BBB score). Nello score che è stato utilizzato il valore zero viene attribuito quando si ha la massima compromissione della funzione motoria (l'animale non

cammina); il valore 20 corrisponde alla funzionalità motoria normale.

I risultati riportati in Tabella 8 indicano che il trattamento con prednisolone-21-(4'-nitroossimetil)benzoato, a differenza del corticosteroide di confronto, induce un recupero delle lesioni.

Tabella 1

Binding recettoriale (GR binding Assay): affinità del composto in esame per il sito recettoriale, espressa come fmoli <sup>3</sup> H Desametasone legato/ml dei nitrossi derivati di idrocortisone		
Composto	Dose (µM)	<sup>3</sup> H Dexamethasone legato fmoli/ml
Hydr-C <sub>4</sub> -ONO <sub>2</sub> (cfr.)	10	4,3
Hydr-C <sub>4</sub> -ONO <sub>2</sub> (cfr.)	0,3	25,6
Hydr-Ar-ONO <sub>2</sub>	10	0
Hydr-Ar-ONO <sub>2</sub>	0,3	17,3

Tabella 2

Binding recettoriale (GR binding Assay): affinità del composto in esame per il sito recettoriale, espressa come fmoli $^3\text{H}$ Desametasone legato/ml, dei nitrossiderivati del Desametasone		
Composto	Dose ( $\mu\text{M}$ )	$^3\text{H}$ Desametasone legato fmol/ml
Dex-C <sub>4</sub> -ONO <sub>2</sub> (cfr.)	0,1	2,6
Dex-Ar-ONO <sub>2</sub>	0,1	1,1

Tabella 3

Binding recettoriale (GR binding Assay): affinità del composto in esame per il sito recettoriale, espressa come fmoli $^3\text{H}$ Desametasone legato/ml, di Prednisolone e derivati corrispondenti		
Composti	Dose ( $\mu\text{M}$ )	$^3\text{H}$ Desametasone legato fmol/ml
Predn-C <sub>4</sub> -ONO <sub>2</sub> (cfr.)	1	9,9
Predn-Ar-ONO <sub>2</sub>	1	0
Predn-pyper-ONO <sub>2</sub>	1	5,5
Predn-pyper-C <sub>3</sub> -ONO <sub>2</sub>	1	2,4



Tabella 4

Esempio F3: variazione tra i valori della conduttanza specifica delle vie aeree ( $sG_{aw}$ ) misurati a  $t_0 = 24$  ore prima e  $t_1 = 15$  minuti dopo l'inalazione dei composti in esame, in animali (cavie) trattati rispettivamente con veicolo, budesonide-NO oppure budesonide a dosi equimolari.

	Veicolo	Budesonide-NO	Budesonide (cfr)
Dose ( $\mu g/ml$ )	-	635	448
$t_0$	$-25,9 \pm 10,4$	$-29,7 \pm 9,8$	$-28,7 \pm 8,8$
$t_1$	$-15,4 \pm 7,4$	$+1,4 \pm 7,9$	$-42,6 \pm 15,9$

Tabella 5

Trattamento	Dose ( $\mu$ moli/kg)	Articolazioni Zampe posteriori		Volume medio zampa (ml)	Valutazione Funzionalità Anca (Score)
		Dimensioni (mm)	Riduzione %		
Naive	-	5,9	-	1,1	0
Controllo	-	7,03	0	1,5	1,6
Predn-Ar-ONO <sub>2</sub>	4	5,7	18,6	1,1	0,1
Predn (cfr)	4	6,1	12,7	1,26	0,6

Tabella 6

Esempio F5 : effetto di Prednisolone e Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil) benzoato (Predn-Ar-ONO <sub>2</sub> ) sull'attività osteoclastica in vitro		
Composto	Conc. (nM)	% Area riassorbita rispetto Area controllo
Controllo	-	100
Prednisolone (confr.)	1	148
Pred-Ar-ONO <sub>2</sub>	1	90

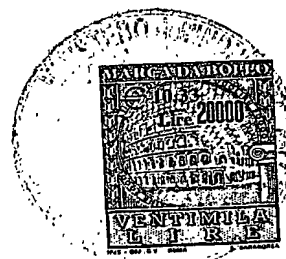
Tabella 7

Esempio F6 : Aggravamento delle lesioni gastriche ) (LI) indotte nel ratto a seguito della somministrazione di Prednisolone e Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil) benzoato (Predn-Ar-ONO <sub>2</sub> )		
Composto	Dose ( $\mu$ moli/kg)	Lesion index (LI)
Controllo	-	3 $\pm$ 1
Prednisolone	28	44 $\pm$ 2,5
Pred-Ar-ONO <sub>2</sub>	28	7 $\pm$ 2,1

Tabella 8

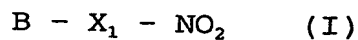
67

Esempio F7: recupero dell'attività motoria dopo trauma indotto della colonna vertebrale e successivo trattamento con Prednisolone (confronto) e Prednisolone-21-(4'-nitroossimetil) benzoato			
	Valutazione comportamento motorio (BBB score)		
Composto	3° giorno	5° giorno	7° giorno
Controllo	4	6	8
Prednisolone (confr.)	1	2	3
Pred-Ar-ONO <sub>2</sub>	8	14	17



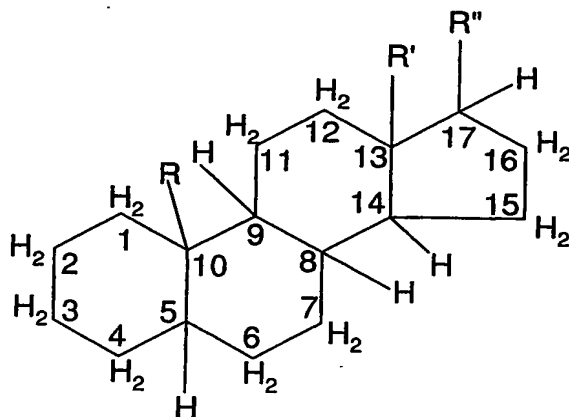
## RIVENDICAZIONI

1. Nitroossi derivati di composti steroidi di formula generale



o loro esteri o sali, in cui:

B è un radicale steroideo avente la seguente struttura:

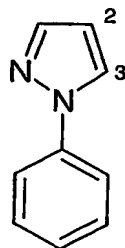


(IA)

in cui al posto dell'idrogeno del gruppo CH, o dei due idrogeni del gruppo CH<sub>2</sub> indicati nella formula generale, si possono avere i seguenti sostituenti:

in posizione 1-2: un doppio legame;

in posizione 2-3 il seguente sostituyente:



(IA-1);

in posizione 2: Cl, Br;

in posizione 3: oxo, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Cl, OH, OCH<sub>3</sub>;

in posizione 4-5: un doppio legame;



in posizione 5-6: un doppio legame;

in posizione 6: Cl, F, Br, CH<sub>3</sub>, -CHO;

l'anello definito dagli atomi di carbonio numerati 1, 2, 3, 4, 5, e 10 é aromatico quando B è il residuo di un estrogeno;

in posizione 7: Cl, OH;

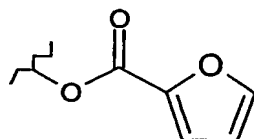
in posizione 9: Cl, F, Br;

in posizione 11: OH, oxo, Cl;

in posizione 16: CH<sub>3</sub>, OH, =CH<sub>2</sub>;

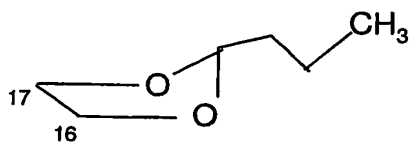
in posizione 17: OH, CH<sub>3</sub>, OCO(O)<sub>ua</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>va</sub>CH<sub>3</sub> in cui ua è un intero uguale a 0 o 1, va è un intero da 0 a 4, etinile (C≡CH);

oppure

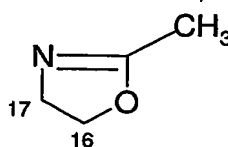


(IA-2)

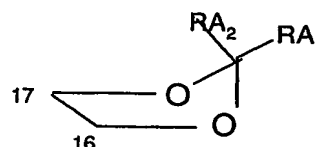
in posizione 16-17 i seguenti gruppi:



(IA-3)



(IA-4)



(IA-5)

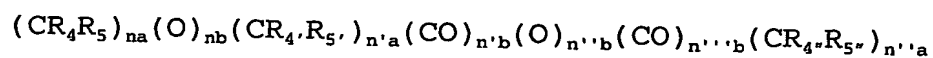
in cui RA<sub>1</sub> è H, CH<sub>3</sub>; RA<sub>2</sub> è una catena alchilica lineare o ramificata C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, preferibilmente C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, ancor più preferibilmente CH<sub>3</sub>, oppure un anello cicloalifatico saturo a 5-6 atomi di carbonio o aromatico opzionalmente sostituito in posizione para con N(R<sub>1c</sub>)<sub>2</sub> dove R<sub>1c</sub> è un

alchile  $C_{1-10}$ , preferibilmente  $C_1-C_4$ , lineare o ramificato;  
 R ed R', uguali o diversi fra di loro, possono essere  
 idrogeno o alchili  $C_1-C_4$ , lineari o ramificati, prefe-  
 ribilmente  $R = R' = CH_3$  oppure  $R = R' = H$ ;  
 preferibilmente B è un residuo di un corticosteroide;  
 R" in posizione 17 è un radicale bivalente che ha uno dei  
 seguenti significati:

IB)  $-(CO-L)_t-(X_0)_{t1}-$ , in cui  $t = 1$  e  $t1$  è 0 oppure 1,  
 preferibilmente 0;

IC)  $-L-(X_0)_{t1}-$ , in cui  $t1$  è 0 oppure 1, preferibilmente  
 1;

il pontante bivalente L ha il seguente significato:

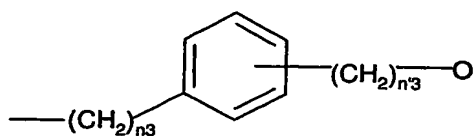


in cui  $na$ ,  $n'a$ , ed  $n''a$ , uguali o diversi tra loro, sono  
 interi da 0 a 6, preferibilmente 1-3;  $nb$ ,  $n'b$ ,  $n''b$  e  
 $n'''b$ , uguali o diversi tra loro, sono interi uguali a 0  
 o 1;  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_4'$ ,  $R_5'$ ,  $R_4''$ ,  $R_5''$ , uguali o diversi fra loro,  
 sono scelti fra H, alchile  $C_1-C_5$ , preferibilmente  $C_1-C_3$ ,  
 lineare o ramificato;

$X_0 = -O-$ ,  $-NH-$ ,  $-NR_{1c}-$  in cui  $R_{1c}$  è come sopra definito;

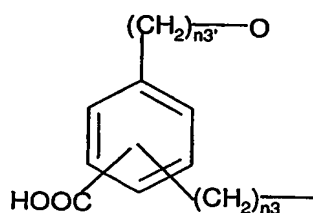
il legame tra lo steroide e il pontante  $X_1$  è di tipo  
 estereo o ammidico;

$X_1$  è un ponte di collegamento bivalente scelto fra i se-  
 guenti:

Y<sub>AR1</sub> :

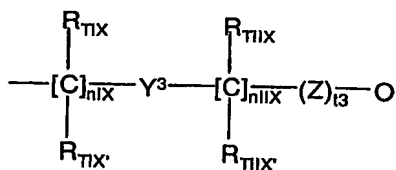
(V)

in cui n<sub>3</sub> é un intero da 0 a 5 ed n<sub>3</sub>' é un intero da 1 a 3;

Y<sub>AR2</sub> :

(VI)

in cui n<sub>3</sub> ed n<sub>3</sub>' hanno il significato sopra indicato.

Y<sub>p</sub> :

(III)

in cui:

n<sub>IX</sub> é un intero da 0 a 10, preferibilmente 1-3;

n<sub>IIIX</sub> é un intero da 1 a 10, preferibilmente 1-5;

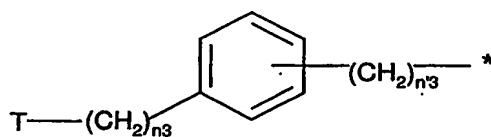
R<sub>TIX</sub>, R<sub>TIX'</sub>, R<sub>TIIX</sub>, R<sub>TIIX'</sub>, uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>; preferibilmente R<sub>TIX</sub>, R<sub>TIX'</sub>, R<sub>TIIX</sub>, R<sub>TIIX'</sub> sono H;



$Y^3$  è un anello eterociclico saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi, contenente da uno a tre eteroatomi, preferibilmente da uno a due, detti eteroatomi essendo uguali o diversi e scelti tra azoto, ossigeno, zolfo, preferibilmente azoto;

$t_3$  è zero oppure 1;

Z ha il seguente significato:



(VI)

in cui:

\* indica la posizione del gruppo  $ONO_2$ ;

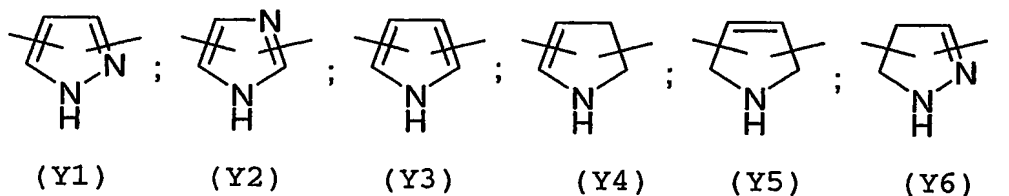
T ha i seguenti significati:

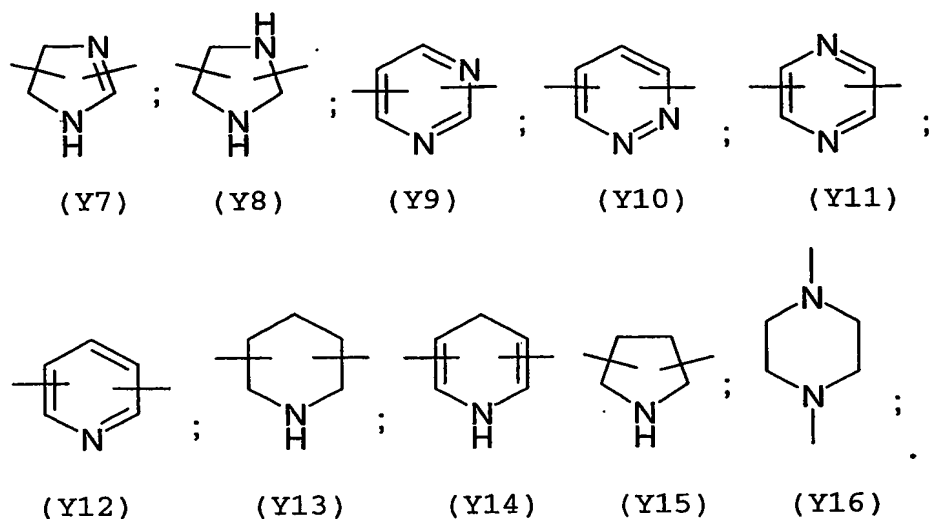
-  $-COX_3-$ ,  $-X_3CO-$ , in cui  $X_3 = S$  oppure  $X_0$  come sopra definito;

-  $-X_3-$  come sopra definito;

$n_3$  ed  $n'_3$  sono come sopra definiti.

2. Composti secondo la rivendicazione 1 in cui  $Y^3$  è scelto tra i seguenti radicali bivalenti:





3. Composti secondo la rivendicazione 2 in cui  $Y^3$  è scelto tra i seguenti: (Y12), avente le due valenze libere nelle posizioni orto rispetto all'atomo di azoto; (Y16) con le due valenze legate ai due eteroatomi, (Y1) (pirazolo) 3,5-disostituito; particolarmente preferito è (Y16).
4. Composti secondo le rivendicazioni 1-3 in cui il precursore di B è scelto tra i seguenti: Budesonide, Hydrocortisone, Alclomethasone, Algestone, Beclomethasone, Betamethasone, Chloroprednisone, Ciclesonide, Clobetasol, Clobetasone, Clocortolone, Cloprednol, Cortisone, Corticosterone, Deflazacort, Desonide, Desoximethasone, Dexamethasone, Dexamethasone 17-furoate, Diflorasone Diflucortolone, Difluprednate, Fluazacort, Fluccloronide, Flumethasone, Flunisolide, Fluocinolone Acetonide, Fluocinonide, Fluocortyn Butyl, Fluocortolone, Fluorometholone, Fluperolone Acetate, Fluprednidene Acetate, Fluprednisolone, Flurandrenolide, Formocortal, Halcinonide,

Halobetasol Propionate, Halometasone, Halopredone Acetate, Hydrocortamate, Itrocinonide, Loteprednol Etabonate, Meclonisonone, Medrysone, Meprednisone, Methylprednisolone, Mometasone Furoate, Paramethasone, Prednicarbate, Prednisolone, Prednisolone 25-Diethylaminoacetate, Prednisolone Sodium Phosphate, Prednisone, Prednival, Prednylidene, Rofleponide Rimexolone, Triamcinolone, 21-Acetoxypregnenolone, Cortivazol, Amcinonide, Fluticasone Propionate, Mazipredone, Taucorten, Tixocortol, Triamcinolone Hexacetonide; acido Ursodesossicolico, acido Chenodesossicolico; Mitatrienediolo, Moxestrololo, Etilnilestradiolo, Estradiolo, Mestranolo; methyl (20R)-6-alfa, 9alfa-difluoro-11beta-idrossi-16alfa, 17alfa propyl methylene dioxyandrosta-1,4-dien-3-one-17beta-carbossilato.

5. Composti secondo le rivendicazioni 1-4 in cui quando B è il residuo di un corticosteroide,  $R'' = IB$  con  $t = 1$  e  $t_1 = 0$ ; preferibilmente nella formula del pontante  $L$   $n_a = n_b = n'_b = 1$ ;  $n'_a = n''_b = n'''_b = n''_a = 0$ ;  $R_4 = R_5 = H$ ; oppure  $n'_b = n''_b = 1$  e tutti gli altri  $n_a, n_b, n'_a, n'''_b, n''_a$  sono uguali a zero.
6. Composti secondo le rivendicazioni 1-4 in cui quando B è il residuo di un acido biliare,  $R'' = IC$  con  $t_1 = 1$ ; preferibilmente nella formula del pontante  $L$   $n_a = n'_b = 1$ ,  $n'_a = 2$ ,  $n''_b = n'''_b = n''_a = n_b = 0$ ,  $R_4 = CH_3$ ,  $R_5 =$

$R_4 = R_5 = H.$

7. Composti secondo le rivendicazioni 1-4 in cui quando B è il residuo di un estrogeno

- $R'' = IC$  in cui  $t_1 = 0$  e nella formula del pontante  $L$   
 $n_b = n'_b = 1$ ;  $n_a = n'_a = n''_b = n'''_b = n'_a = 0$ ,  
 l'altro sostituyente dell'atomo di carbonio in  
 posizione 17 è preferibilmente H o etinile, e in  
 posizione 3 uno dei sostituenti opzionalmente è il  
 gruppo  $-R''-X_1-NO_2$  ( $R''$  come definito sopra);

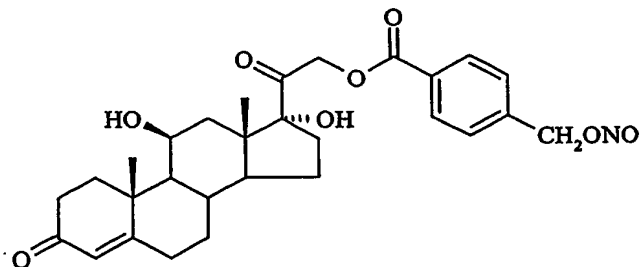
oppure

- in posizione 3 è presente il gruppo  $-R''-X_1-NO_2$ ,  
 essendo  $R''$  come sopra definito quando B è il residuo  
 di un estrogeno, allora i sostituenti dell'atomo di  
 carbonio in posizione 17 nella formula (IA) di B  
 sono i seguenti:

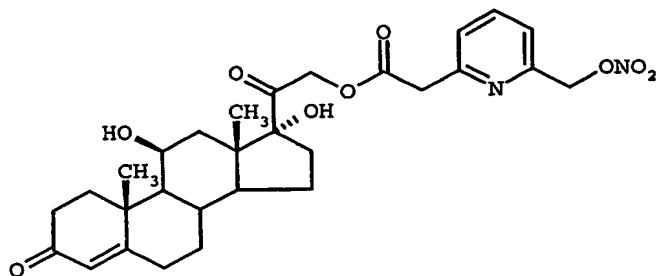
- $R'' = -O-$ , in cui la valenza libera dell'ossi-  
 geno è saturata con H;
- H è sostituito con un gruppo diverso da OH.

8. Composti secondo le rivendicazioni 1-7, scelti tra i seguenti:

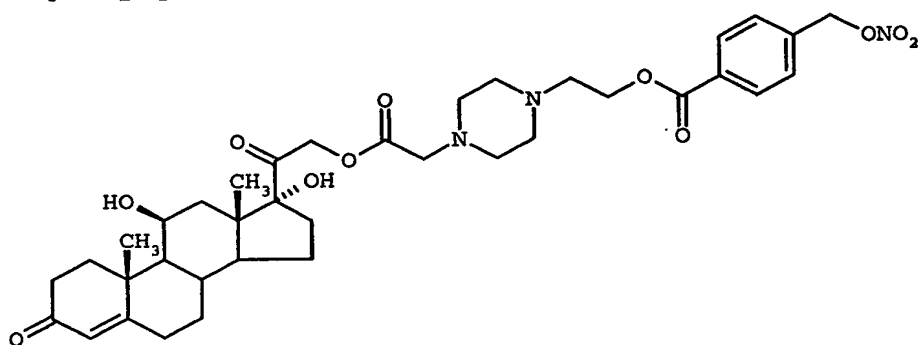
Idrocortisone 21-(4'-nitrossimetil) benzoato



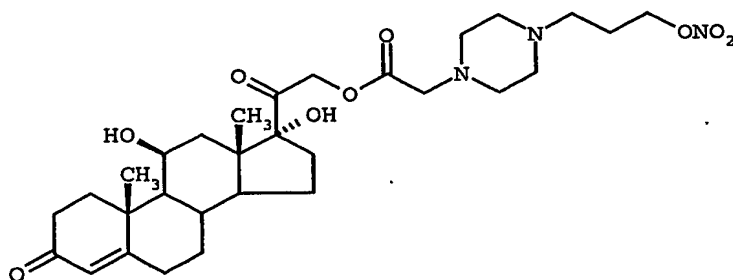
Idrocortisone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil] acetato]



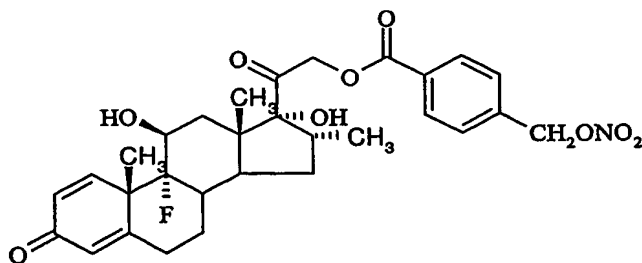
Idrocortisone-21[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi] etil] 1-piperazinil]acetato]



Idrocortisone-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil] acetato]

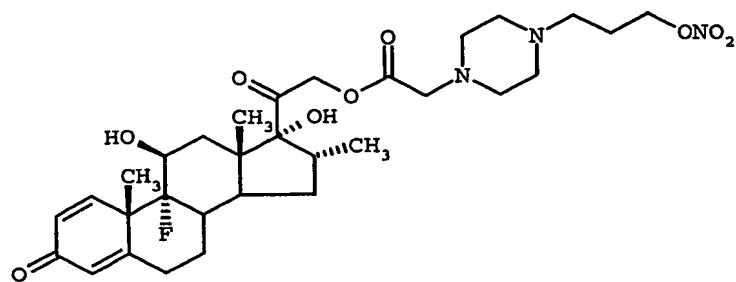


Desametasone 21-(4'-nitroossimetil)benzoato

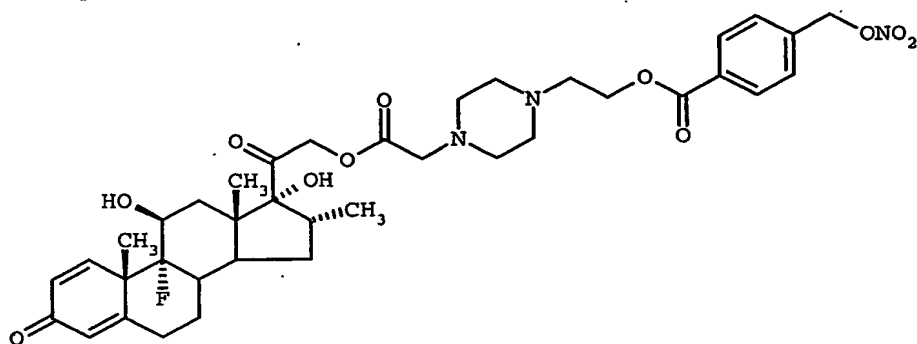




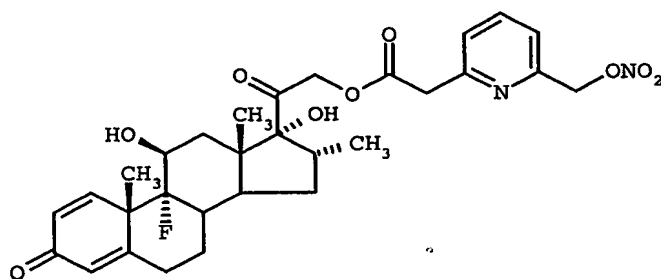
Dexametasone-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazi-  
nil] acetato]



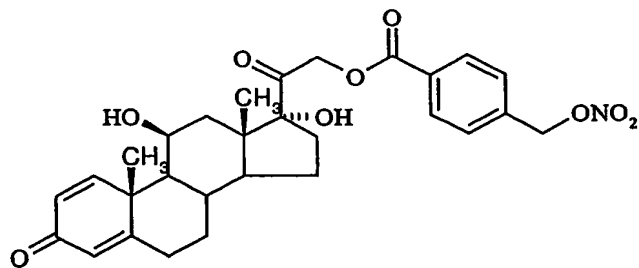
Dexametasone-21[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi]  
etil]-1-piperazininil]acetato]



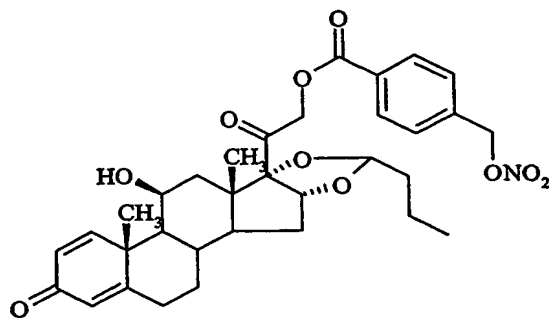
Dexametasone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]  
acetato]



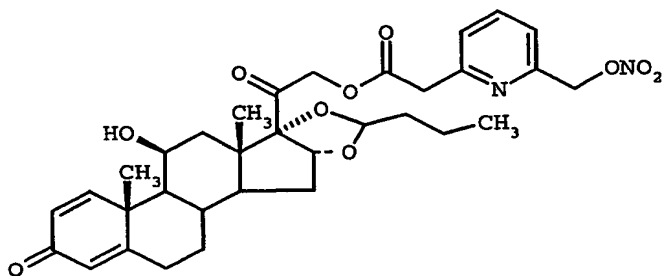
Prednisolone 21-(4'-nitrossimetil)benzoato



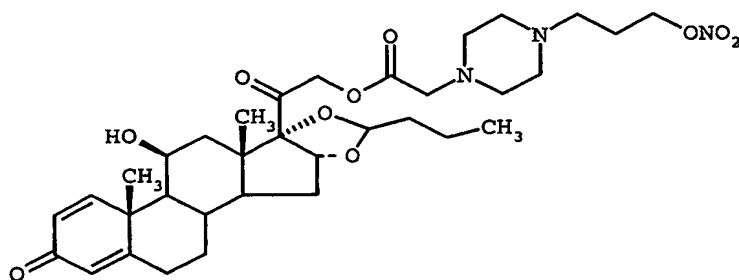
Budesonide 21-(4'-nitrossimetil)benzoato:



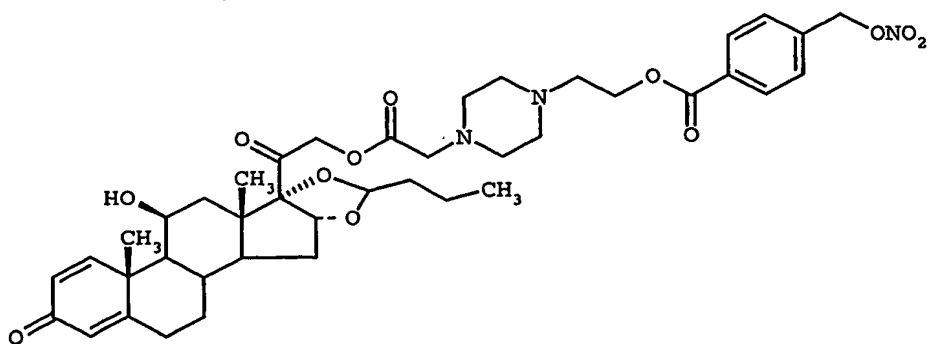
Budesonide-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]



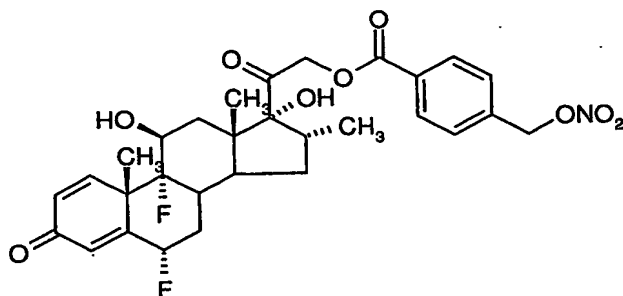
Budesonide-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil]  
acetato]



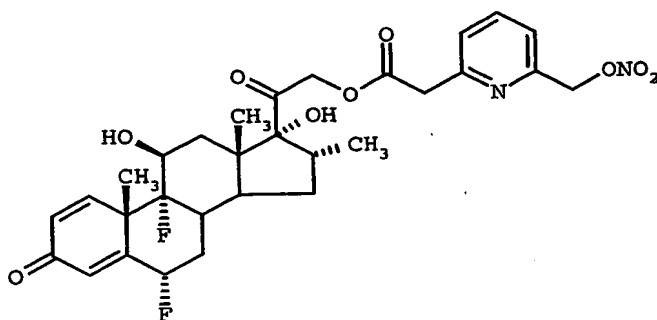
Budesonide-21[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilos-  
sietil]-1-piperazinil]acetato]



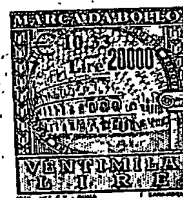
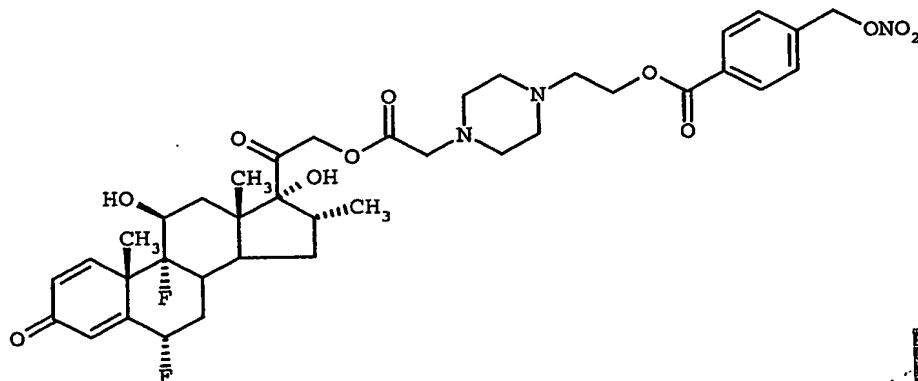
Flumetasone 21-(4'-nitrossimetil)benzoato:



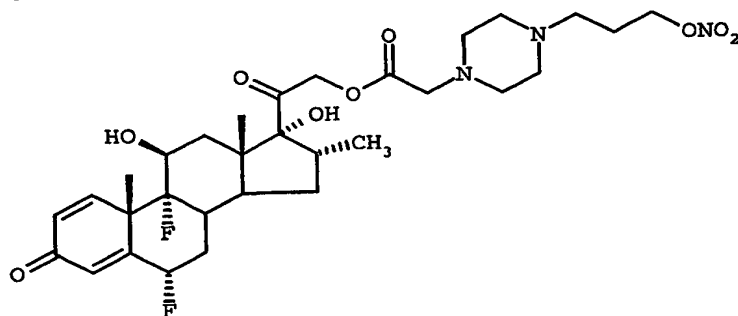
Flumetasone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil]acetato]



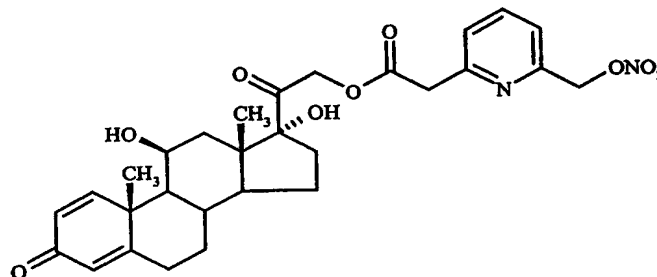
Flumetasone-21[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilos-sietil]-1-piperazinil]acetato]



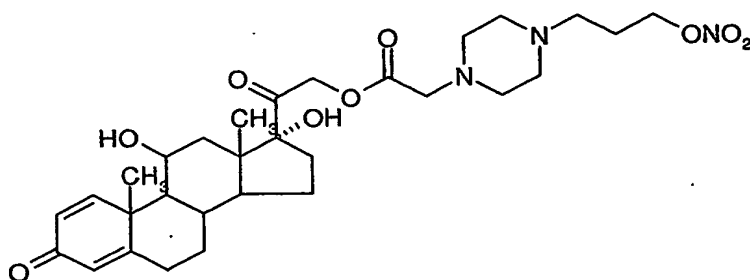
Flumetasone-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil]  
acetato]

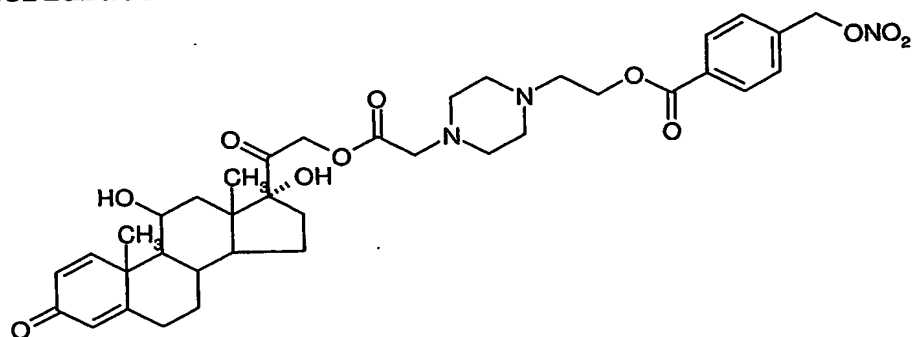


Prednisolone-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil] acetato]

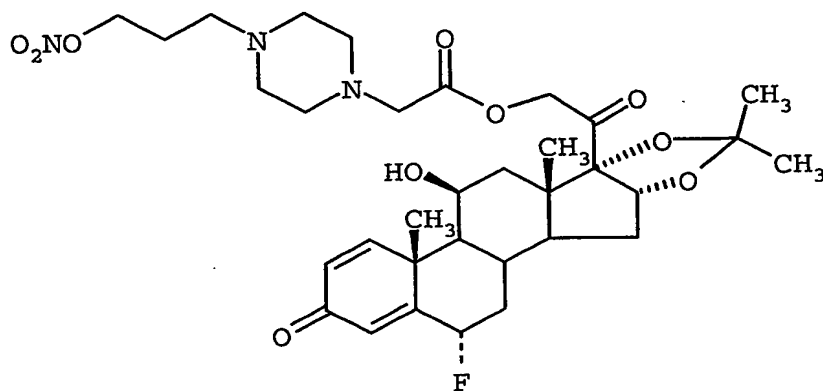


Prednisolone-21-[2-[4-(3-nitroossipropil) piperazin-1-il]  
acetato] e il corrispondente sale biscloridrato:

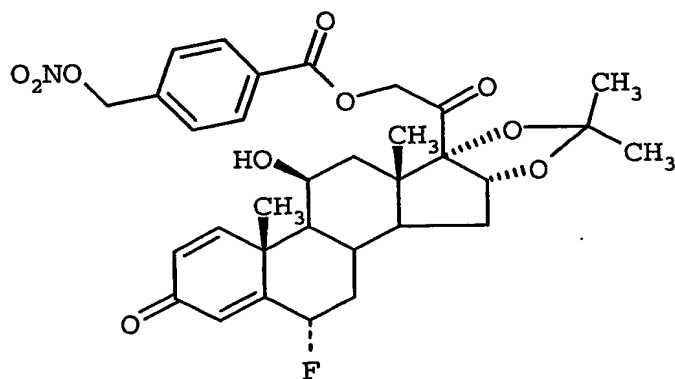




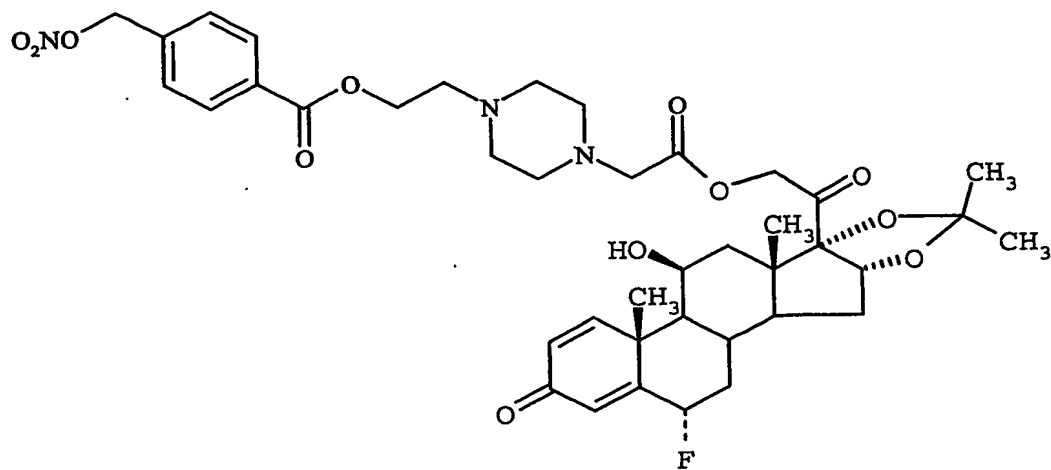
Flunisolide-21-[2-[4-[3-(nitroossi)propil]-1-piperazinil]  
acetato]



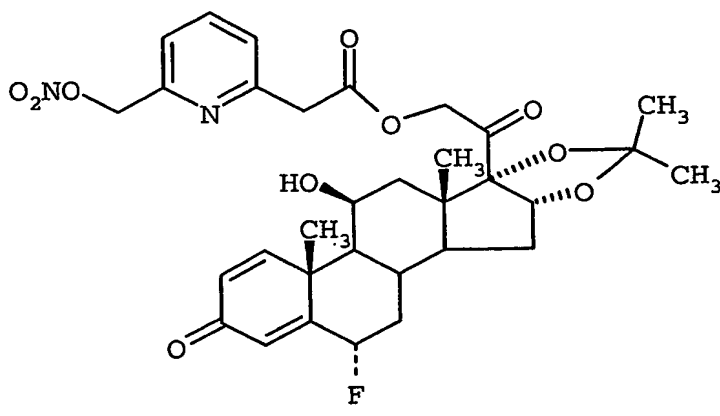
Flunisolide-21-[(4'-nitroossimetil)]benzoato



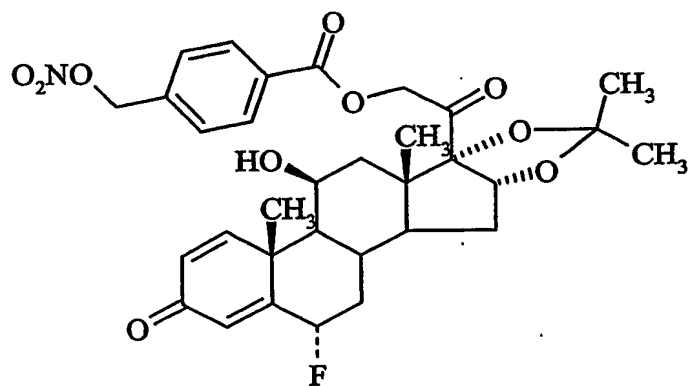
Flunisolid-21-[2-[4-[2-[4-(nitroossimetil)benzoilossi]  
etil]-1-piperazinil]acetato]



Flunisolid-21-[2-[6-(nitroossimetil)-2-piridinil] acetato]



Flunisolid 21-[(4'-nitrooxymethyl)benzoate]



9. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 per la preparazione di medicinali.
10. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 come farmaci aventi attività antiinfiammatoria a livello periferico.
11. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 per la terapia delle malattie neurodegenerative su base infiammatoria e traumatica del sistema nervoso.
12. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 come farmaci ad attività antiartritica.
13. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 come farmaci ad attività immunodepressiva.
14. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 come farmaci ad attività angiostatica/angiogenetica.
15. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 come farmaci ad attività antiasmatica.
16. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie ormonali sostitutive, preferibilmente nella terapia post-menopausa.
17. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie delle malattie reumatiche.
18. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie delle malattie renali.
19. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie delle malattie bronchiali.



20. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie delle malattie oculari.
21. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie delle malattie dermatologiche.
22. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie delle malattie autoimmuni.
23. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 nelle terapie dei processi tumorali, opzionalmente in combinazione con trattamenti chemioterapici e/o radioterapici.
24. Uso secondo la rivendicazione 10 nelle patologie infiammatorie a carico del sistema gastrointestinale.
25. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-8 in cui i composti glucocorticoidi sono utilizzati nelle patologie respiratorie caratterizzate da episodi bronco-ostruttivi.
26. Formulazioni farmaceutiche comprendenti i composti delle rivendicazioni 1-8.

Milano, 29 GEN. 2002

p. NICOX S.A.

SAMA PATENTS

(Daniele Sama)

